

ANNALES DE PARASITOLOGIE
HUMAINE ET COMPARÉE

ANNALES DE PARASITOLOGIE HUMAINE ET COMPARÉE

Périodique fondé en 1923 par :

Emile BRUMPT

DIRECTEUR

Maurice LANGERON † Maurice NEVEU-LEMAIRE

SECRÉTAIRES GÉNÉRAUX :

Henri GALLIARD

Lucien BRUMPT

SECRÉTAIRE DE LA RÉDACTION

Mlle Alice BUTTNER

Tome XXVI. — 1951



MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADEMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XXVI

1951

N^os 1-2

MÉMOIRES ORIGINAUX

MODIFICATIONS DE L'ÉVOLUTION ET DE LA VIRULENCE D'UNE SOUCHE DE *TRYPANOSOMA CRUZI* CHAGAS SOUS L'ACTION DE DIVERS PRODUITS CHIMIOTHERAPIQUES ET ANTIBIOTIQUES

Par H. GALLIARD et R. BOUTET

Si les auteurs paraissent d'accord pour convenir qu'aucun médicament n'agit de façon définitive sur l'infection à *Trypanosoma cruzi*, chez l'homme, par contre, des succès indiscutables ont été obtenus expérimentalement.

L'atoxyl s'est montré actif, d'après Desterlin (1936), sur les formes sanguicoles. Jensch, en 1937, a décrit la préparation d'une substance acétate de di-(méthyl-4-amino-quinolyl-6-dialyl-mallonamide), remarquablement active, appelée Bayer 7602. Browning, Calver, Leckie et Wallo (1946), confirment que seul le 7602 a une action favorable sur le *Trypanosoma cruzi*. D'après eux, la véritable formule est maintenant connue et publiée par le « A. M. Stationnery Office in British Intelligence Sub-Committee », c'est le diallylmalondi (4-amino-2-méthyl-quinolyl-6-amide). Mazza, Cossio et Zoccardi (1937), Mazza, Freire et Salica (1942), l'ont expérimenté cliniquement. Pour Mazza (1941), Muzzo, G. Basso et R. Basso (1942), il agit expérimentalement sur les formes flagellées, mais non sur les formes Leishmania dans les tissus. Cependant, chez la souris, les trypanosomes disparurent du sang et les formes de reproduction ne

furent pas retrouvées. Fulton (1943) a traité les animaux en expérience de façon précoce, avant que les formes tissulaires aient pu se reproduire en abondance. L'auteur est d'accord avec Mazza en ce qui concerne la non modification et la mobilité des caractères morphologiques des formes flagellées.

En ce qui concerne les dérivés de la quinoléine, Goble (1949) a obtenu certains résultats avec le groupe des 8 aminoquinoléines. Les souris furent injectées par voie intrapéritonéale ou orale, et les résultats mesurés par le pourcentage des survies. La pentaquine dans le groupe a donné les meilleurs résultats et un pourcentage élevé de guérisons, mais cependant la toxicité du produit réduit son efficacité au point de vue clinique. Jarpa, Christen, Agosin, Pizzi, Cortès (1950) ont obtenu un résultat évident avec une combinaison de phosphate de pentaquine et de sulfate de quinine. L'action paraissait revenir au phosphate de pentaquine. La chloroquine et la quinine n'eurent aucun effet sur la marche de la maladie.

Enfin, pour les antibiotiques, Talice, en 1945, traite un enfant par la pénicilline. Le traitement fut sans effet. L'auteur conclut que ces résultats confirmaient ses propres expériences sur les animaux de laboratoire. Neghme (1945), utilisant la pénicilline, a obtenu, avec une souche léthale de *Trypanosoma cruzi*, au cours de l'infection expérimentale chez la souris, une aggravation de la maladie qui amène une mort plus rapide que chez les témoins. Jarpa, Christen, Agosin et Pizzi (1949), avec l'auréomycine, ont constaté expérimentalement une aggravation de l'infection avec mort précoce des souris en expérience, mais aucune action avec la streptomycine et la chloromycétine (1950). Ces mêmes auteurs ont essayé le T.B.1, dérivé carbazonique dont l'action sur le bacille de Koch a été démontrée. L'infection des souris traitées fut beaucoup plus intense (123 trypanosomes contre 22,6 par 5 mm³ chez les témoins), avec une survie de 37 jours contre 40. Les auteurs attribuent ce fait à la toxicité du produit qui provoque des lésions du foie et des reins.

Nous avons cherché quelle pouvait être l'action d'un certain nombre de produits (1), les uns réputés comme efficaces, comme le 7602, les autres non spécifiques. Nous avons présenté, au V^e Congrès de Microbiologie (Rio de Janeiro, août 1950), une note préliminaire sur le sujet que nous développons ici, et auquel nous avons ajouté l'action d'autres antibiotiques.

Les effets de certains de ces produits pouvant être d'exalter

(1) Nous tenons à exprimer notre gratitude envers le professeur E. Brumpt, qui a rapporté et conservé pendant des années la souche de *T. cruzi*; au Dr J. Schneider, et à MM. les Directeurs des Maisons Specia et Roussel, pour les produits qu'ils ont bien voulu nous confier.

l'infection plutôt que de la guérir, nous avons choisi une souche non léthale (E. Brumpt, Villa de Cura, Vénézuéla). La plupart des auteurs ont utilisé, en effet, pour leurs essais thérapeutiques, des souches de *T. cruzi* donnant une infection mortelle à la souris, et ont apprécié les résultats par la proportion des animaux survivants. Nous n'avons pas recherché l'effet thérapeutique, qui est en général bien connu, mais nous avons voulu étudier les modifications de l'évolution, si légères soient-elles.

De plus, nous avons utilisé, comme mode d'infection pour les souris (toutes mâles, adultes de 20 gr.), les formes métacycliques contenues dans les déjections des réduvidés (*Triatoma infestans* et *Rhodnius prolixus*), introduites par scarification de la peau. L'expérience nous a montré qu'en se plaçant dans les conditions naturelles, en utilisant la voie dermique, on obtenait chez les témoins une évolution, une durée et une intensité de l'infection beaucoup plus constantes. Les courbes sont pratiquement superposables alors qu'elles sont irrégulières lorsque les trypanosomes du sang ou des déjections sont injectées par toute autre voie. Ainsi, on peut considérer que la moindre modification de la courbe est due à un phénomène anormal. Par ailleurs, on peut vérifier avec certitude l'action des produits chimiothérapeutiques sur les différentes phases du développement.

Les trypanosomes ont été comptés par champ dans une goutte de sang (ocul. 6, obj. 6). Cette méthode n'est pas d'une précision rigoureuse, mais elle est suffisante, avec un opérateur entraîné, pour donner des résultats comparables entre eux, comme le montre la régularité des courbes d'infection chez plus de 200 souris ayant servi à entretenir la souche et à l'expérimentation.

Dans ces conditions, la durée d'incubation (appréciable au microscope) est de 10 jours en moyenne ; la durée de l'infection est de 55 jours en moyenne ; le maximum de la courbe se place au 30^e jour, le taux maximum de l'infection est de 20 à 30 trypanosomes par champ. Pour simplifier nous avons adopté, comme test de guérison, la disparition des formes sanguicoles.

I. 7602 Bayer. — 1^o *Préventivement et curativement* (0 mgr., série de 4 injections tous les 2 jours, les 8 jours avant inoculation, puis 0 mgr. 8 les 2^e, 4^e et 6^e jours après le début de l'infection). Les deux souris n'ont jamais présenté de trypanosomes pendant 90 jours. 2^o *Curativement* (0 mgr. 8 les 2^e, 4^e, 6^e et 8^e jours après le début de l'infection). L'infection chez les deux souris a atteint son maximum les 22^e et 24^e jours (au lieu du 30^e jour), avec 5 et 6 trypanosomes par champ au lieu de 20, et s'est terminée le 38^e jour au lieu du 55^e.

3° *Préventivement* : 4 fois 0 mgr. 8 tous les 2 jours, les 8 jours précédent l'inoculation. Retard de 6 jours dans l'incubation, maximum même jour que le témoin, maximum : 1 trypanosome contre 20, terminaison le 47^e jour au lieu du 55^e (fig. 1).

Il y a donc ici une action nettement trypanocide. Les courbes de traitement sont enfermées dans le triangle du témoin, contrairement à ce qui se passe pour tous les autres produits. L'action préventive est nulle. L'association des traitements préventif et curatif a empêché l'infection de se manifester (fig. 1). Ce fait est dû à la quantité de produit injectée mais non à une action sur les formes *Leishmania*.

Dans une autre expérience, une souris a reçu le 14^e jour (5 jours après l'apparition des trypanosomes) une injection unique de 7602 (0 mgr. 8). La courbe est devenue oscillante sans dépasser 1 trypanosome par 5 champs et la guérison a été retardée de 15 jours. Ainsi à dose faible, l'action retardante s'est manifestée, mais le nombre des trypanosomes est resté très faible.

La même expérience a été répétée avec une injection unique de 7602, mais dilué dans du sang de souris. Une souris neuve a reçu une dose unique et massive de 2 mgr. de 7602. Une demi-heure après, on ponctionne le sang total par voie intra-cardiaque, on citrate et on inocule 1 cc. 10 jours après le début de l'infection à une souris présentant ce jour un trypanosome par champ. Acmé en plateau du 25^e au 29^e jour (5 trypanosomes par champ au lieu de 12). Guérison le 54^e jour au lieu du 55^e. Peu d'action.

Dans une autre expérience, on injecte à une souris présentant 20 trypanosomes par champ 2 mgr. de 7602. Une demi-heure après, on prélève son sang par ponction intra-cardiaque et on inocule à une souris neuve comme précédemment. Retard de l'incubation : 8 jours. Courbe oscillante avec maxima réguliers ne dépassant pas 1 trypanosome par champ au lieu de 12. Guérison retardée de 27 jours (83^e jour). L'action retardante a été forte et le nombre des trypanosomes, à l'acmé, faible par rapport au témoin. Cependant, le nombre total des trypanosomes est sensiblement égal à celui du témoin.

II. Lomidine. — Ce produit est le diméthane sulfonate de PP' diamidino 1-5 diphénoxy pentane. 1° *Préventivement et curativement* : 5 injections de 0 mgr. 2 pendant les 10 jours précédent l'infection ; 5 injections de 0 mgr. 2 du 2^e au 10^e jour (période du début de l'apparition des trypanosomes chez les témoins). Les deux souris ainsi traitées n'ont jamais présenté d'infection. 2° *Curativement* : comme ci-dessus 5 injections de 0 mgr. 2 du 2^e au 10^e jour après le début de l'infection. Le maximum a été réduit (4 au lieu de 20 trypanosomes par champ), mais la durée de l'infection a été prolongée

de 8 jours par rapport au témoin. 3° *Préventivement* : 5 injections de 0 mgr. 2 à 2 jours d'intervalle pendant les 10 jours précédant l'infection. L'incubation a été retardée de 18 jours, la courbe est oscillante sans dépasser 1 trypanosome par 2 champs. L'infection a été prolongée de 27 jours par rapport au témoin (fig. 5).

Dans une 2^e série d'expériences avec ce produit (fig. 6), 3 souris ont été inoculées par injection intra-péritonéale avec 1 cc. du sang citraté d'une souris infectée 16 jours avant, ayant reçu 2 injections de 0 mgr. 7 de lomidine à 24 heures d'intervalle ; ce sang, qui présentait 4 trypanosomes par champ, avait été prélevé par ponction cardiaque une demi-heure après la 2^e injection. L'évolution a été remarquable : incubation normale mais oscillations considérables du taux de l'infection avec maximum ne dépassant pas 6 trypanosomes par champ (contre 15), et guérison retardée de 25, 30 et 33 jours par rapport au témoin. Les trois courbes sont superposables.

III. Antimoniate de N méthyl glucamine (glucanthime, 2168 R.P.).
1° *Curativement* : 12 injections intra-musculaires, tous les deux jours, de 2 mgr., commencées le 11^e jour après l'apparition des trypanosomes. La courbe présente des oscillations avec deux maximums réduits (3 et 5 trypanosomes par champ contre 12) les 25^e et 45^e jours ; guérison 5 jours après le témoin. 2° *Curativement et préventivement* : 8 injections de 2 mgr. tous les deux jours avant inoculation, puis 8 injections de 2 mgr. tous les deux jours en commençant le 5^e jour après l'apparition des trypanosomes (fig. 3).

Retard d'incubation : 8 jours ; courbe oscillante avec maximum les 25^e et 50^e jours (1 et 2 trypanosomes par champ contre 12). Guérison retardée de 20 jours.

IV. 309 Fourneau (205 Bayer, Moranyl). — 1° *Curativement* : 5 injections de 0 mgr., 3, 10, 15, 20, 25 et 30 jours après l'apparition des trypanosomes. Maximum le 35^e jour (contre 30), avec 4 trypanosomes par champ au lieu de 10. Guérison le 65^e jour (contre le 52^e). 2° *Préventivement et curativement* : 5 injections de 0 mgr. 2 tous les 3 jours pendant les 15 jours précédant l'inoculation. Puis curativement comme ci-dessus (mais 0 mgr. 2 chaque fois), les 5^e, 10^e, 15^e, 20^e et 25^e jours après l'apparition des trypanosomes. Incubation retardée de 5 jours. Oscillation de la courbe avec maximum le 45^e jour et rechute le 70^e. Guérison le 88^e jour (contre le 52^e). Retard de 36 jours (fig. 2).

V. Tryparsamide. — 1° *Curativement* : 6 injections de 2 mgr. en solution à 20/100 à raison de 2 par semaine, commencées le 2^e jour après le début de l'infection. Réduction du maximum : 10 trypano-

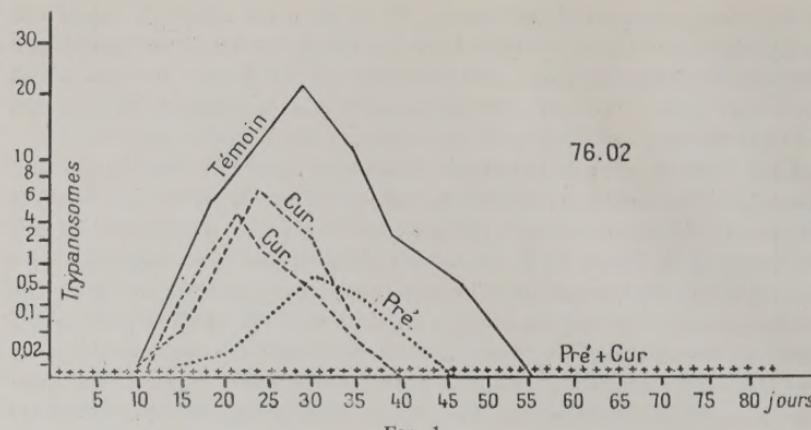


FIG. 1

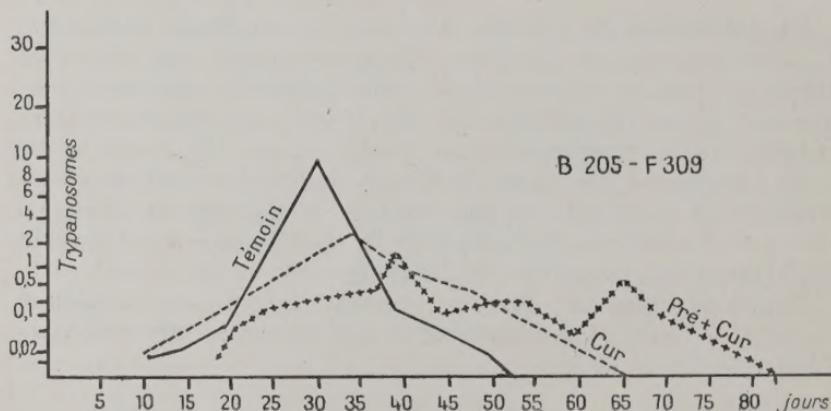


FIG. 2

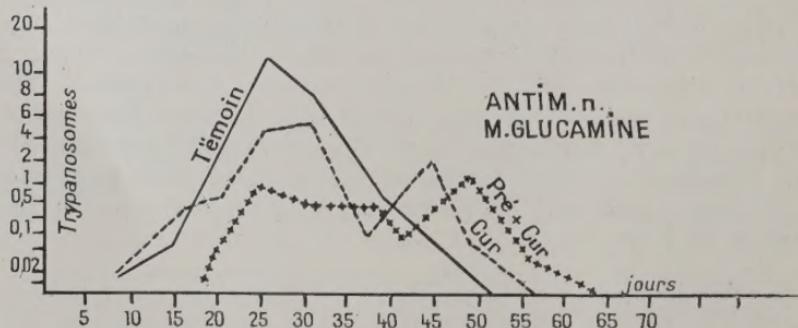


FIG. 3

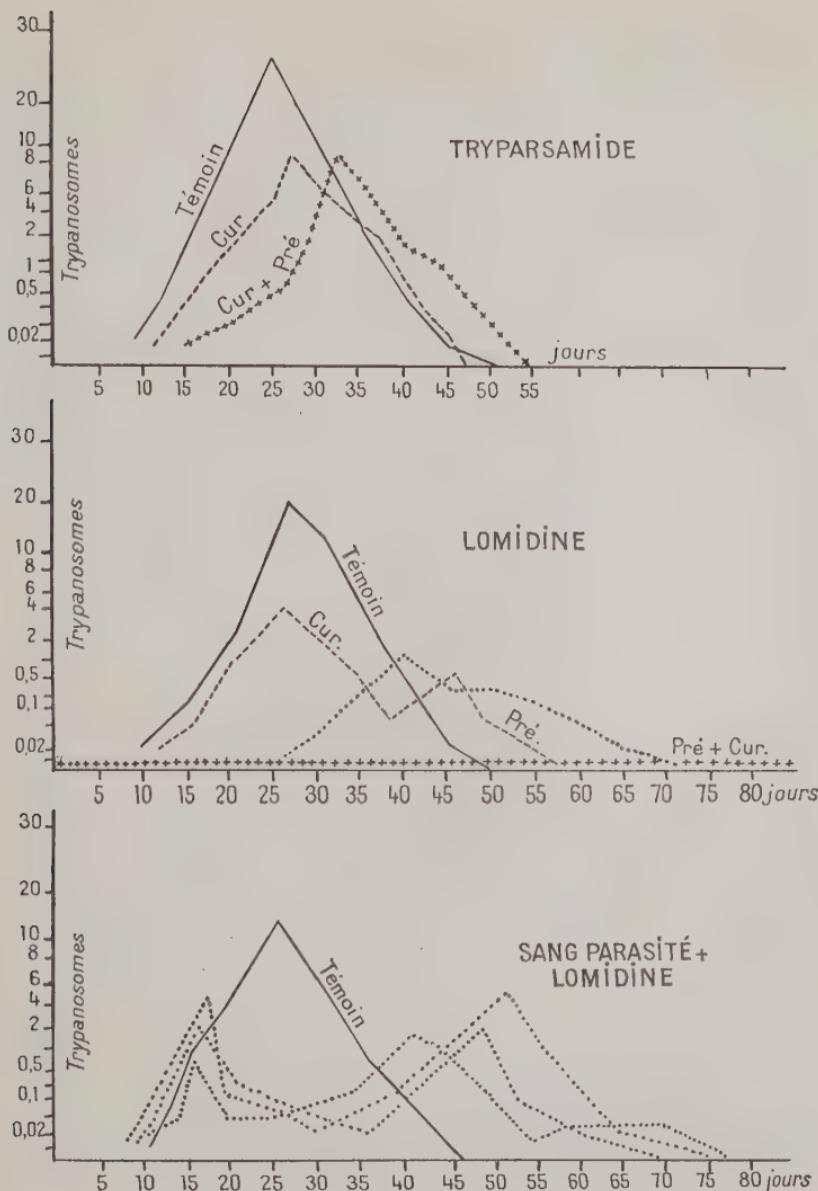


FIG. 4-5-6

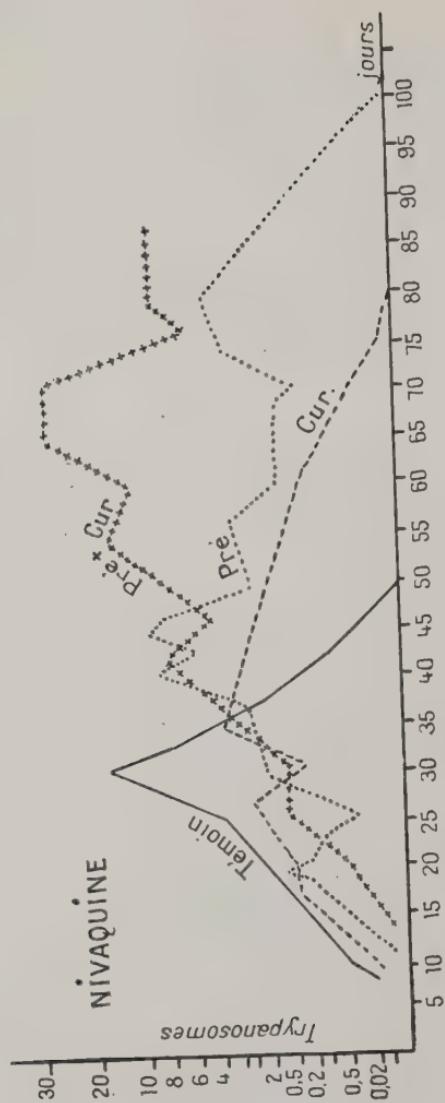


FIG. 7

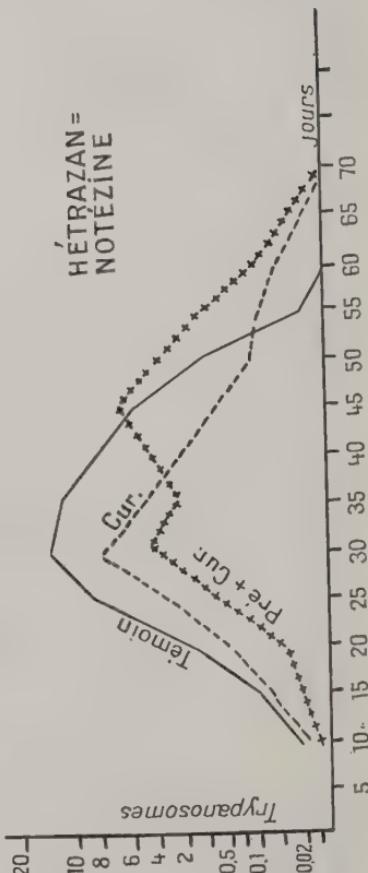


FIG. 8

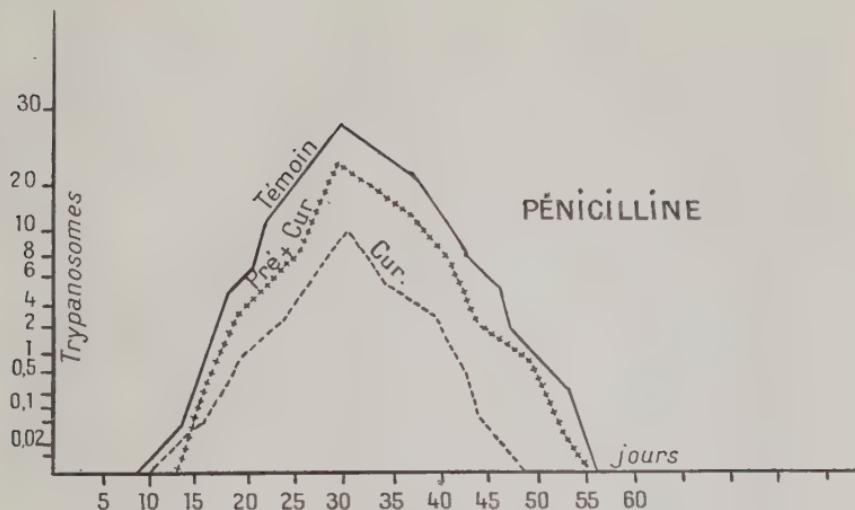


FIG. 9

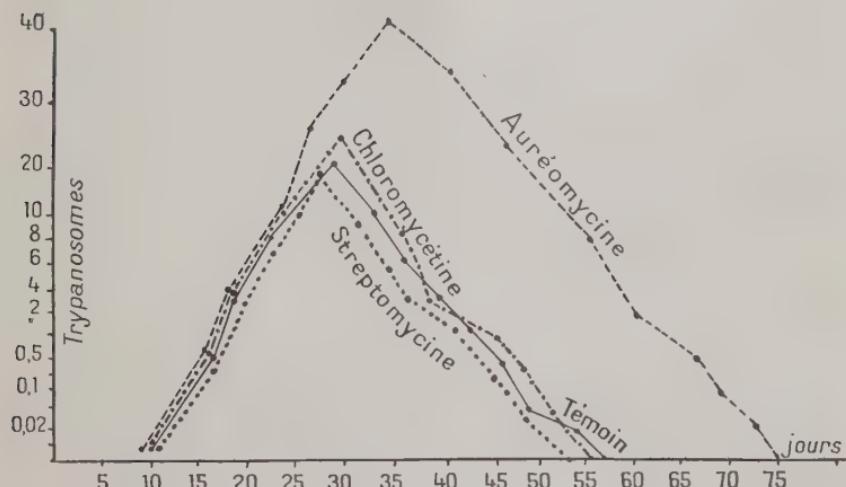


FIG. 10

somes par champ au lieu de 20, guérison avancée de 8 jours. 2^e *Préventivement-curativement* : 6 injections préventives de 1 mgr., à raison de 2 par semaine, et 6 curatives de 1 mgr. Incubation retardée de 5 jours, maximum retardé de 8 jours et abaissé à 8 trypanosomes par champ contre 25 Guérison retardée de 5 jours (fig. 4).

VI. Nivaquine. — 1^e *Curativement* : au 3^e jour de l'infection, 5 injections de 0 mgr. 2 pendant 5 jours. Série d'oscillations, maximum ne dépassant pas 5 trypanosomes par champ, mais prolongation très importante de l'infection (35 jours de plus que le témoin). 2^e *Préventivement et curativement* : 0 mgr. 1 par jour, 5 jours avant l'infection, puis comme précédemment. Série d'oscillations ascendantes atteignant 40 trypanosomes par champ le 65^e jour. Mort le 89^e jour avec 10 trypanosomes depuis 10 jours. Témoin guéri le 50^e jour. L'action exaltante est tout à fait remarquable, surtout dans le cas préventivement-curativement. 3^e *Préventivement* : 5 injections de 0 mgr. 2 en 5 jours. Inoculation le 6^e jour. Courbe oscillante ascendante jusqu'au 45^e jour avec maximum de 10 trypanosomes par champ (comme le témoin, mais avec retard de 20 jours). Remontée le 78^e jour, puis abaissement progressif et guérison le 105^e jour (fig. 7).

VII. Pénicilline. — 1^e *Préventivement et curativement* : 5.000 unités par jour 5 jours avant l'inoculation, et 5.000 unités à partir du 5^e jour de l'infection apparente. Incubation retardée de 2 jours, acmé le même jour que le témoin, mais 18 trypanosomes par champ au lieu de 25. Guérison 9 jours avant le témoin. 2^e *Curativement* : mêmes doses à partir du 5^e jour de l'infection apparente. Acmé le même jour que le témoin, mais 20 trypanosomes au lieu de 25. Guérison avancée de 3 jours. L'effet est donc faible. Les maxima sont cependant modifiés (fig. 9).

VIII. Auréomycine. — Le contenu de 3 capsules de 0 gr. 25, dilué dans du lait, a été administré à la souris en 10 jours (7 egr. 5 par jour), à partir du 20^e jour après l'inoculation (ou 10 jours après le début de l'infection sanguine). La courbe monte plus rapidement que celle du témoin et atteint un maximum de 40 trypanosomes le 34^e jour (au lieu de 57 jours). Il y a eu exaltation très nette de la virulence et retard de guérison de 18 jours. De plus, la souris a présenté une anémie extrême (fig. 10).

IX Streptomycine. — Une injection quotidienne de 0 mgr. 5 pendant 10 jours, à partir du 16^e jour après l'inoculation, 5 jours après le début de l'infection, jusqu'au 26^e jour. La courbe est pratique-

ment superposable à celle du témoin. Le produit est sans effet sur l'infection (fig. 10).

X. Chlormycétine (typiomycine). — 0 gr. 10 tous les deux jours, 5 fois, par voie orale, le 14^e jour après l'inoculation, le 4^e jour de l'infection. Acmé le 33^e jour avec 22 trypanosomes par champ (20 chez le témoin). Guérison le 52^e jour (57 chez le témoin). La courbe est pratiquement superposable à celle du témoin. Le produit est sans effet (fig. 10).

XI. Acide para-amino salicylique. — 1^o *Curativement* : 1 cgr. tous les jours pendant 5 jours, en débutant le 7^e jour après l'apparition des trypanosomes. Acmé le même jour que le témoin avec 10 trypanosomes par champ contre 15. Guérison avancée de 3 jours. 2^o *Curativement et préventivement* : 1 cgr. 5 jours de suite avant l'inoculation, puis même dose du 5^e au 10^e jour après l'apparition des trypanosomes. Incubation retardée de 2 jours. Acmé retardé de 5 jours ; 6 trypanosomes par champ contre 15. Guérison retardée de 5 jours. L'action est pratiquement nulle. Les courbes sont calquées les unes sur les autres.

XII. 1-diéthyl carbamyl-4-méthyl piperazine. — 1^o *Préventivement et curativement* : on a dissous un comprimé de notézine dans 20 cc. d'eau que l'on a laissé à boire aux souris, pendant 10 jours avant l'inoculation. Le traitement a été ensuite repris 15 jours après le début de l'infection apparente. 2^o *Curativement* : même procédé. Début au 12^e jour après le début de l'infection apparente. Dans le premier cas, aucun changement dans le temps d'incubation (10 jours). Acmé le 30^e jour de la maladie avec 5 trypanosomes par champ contre 18 ; un second acmé à 8 trypanosomes par champ le 45^e jour. Guérison retardée de 7 jours. Dans le 2^e cas acmé le 28^e jour comme le témoin avec 10 trypanosomes par champ contre 18 ; guérison retardée de 4 jours. L'action de ce produit est donc faible. Mais il existe une certaine irrégularité et un décalage des courbes (fig. 8).

RÉSULTATS

Seuls trois produits, la pénicilline, la chlormycétine et la streptomycine, se sont montrés complètement inactifs. Les courbes sont superposables à celles des témoins.

L'hétrazan = notézine et l'acide para-amino-salicylique ont eu un effet peu marqué, mais les courbes sont cependant modifiées.

A l'extrême autre, le 7602 a une action très nette sur les formes sanguines : les courbes de traitement préventif et de traitement

curatif sont contenues dans la courbe du témoin. En combinant les deux traitements, l'animal n'a jamais présenté d'infection apparente. Le traitement curatif seul n'a pas empêché l'animal de s'infecter.

Dans le cas de la lomidine, du glucanthline, de la tryparsamide, les courbes sont typiques. Le traitement curatif abaisse le maximum, mais la courbe est oscillante et la guérison est retardée. Le traitement préventif, ou préventif et curatif, prolonge l'incubation, abaisse les maximums et retarde aussi la guérison. Dans le cas de la lomidine, du Bayer 205 (= 309 Fourneau), la courbe est complètement décalée en dehors du triangle du témoin. Dans le cas de la lomidine cependant, la combinaison des deux traitements a empêché toute infection, tout au moins jusqu'au 90^e jour. La penta-midine à forte dose a une action trypanocide certaine mais moins marquée que le 7602. Mais le produit est très toxique, surtout au cours de l'infection. L'auréomycine a eu un effet nettement exaltant.

L'effet de la nivaquine a été remarquable. Le traitement curatif a prolongé l'infection de 35 jours par rapport au témoin. Le traitement préventif a prolongé l'infection ; quant au traitement préventif-curatif, il a exalté la virulence du germe. Le maximum a été atteint le 70^e jour avec 30 trypanosomes par champ, contre 10 pour le témoin. La mort s'est produite le 90^e jour.

CONCLUSIONS

Quelles conclusions peut-on tirer de ces expériences, tout au moins avec les produits actifs ?

1^o Aucun produit, même le 7602, n'empêche la transformation des formes métacycliques, provenant de l'intestin des réduvidés, en formes *Leishmania*, ni leur multiplication dans les cellules réticulaires d'abord et dans les autres tissus ensuite, non plus que la production des formes flagellées du sang.

2^o Seul le 7602 a un effet curatif évident sur les formes flagellées sanguicoles. L'association des traitements préventif et curatif empêche toute infection dans les cas du 7602 et de la lomidine.

3^o Pour la lomidine et pour les autres produits, le traitement préventif ou curatif produit un ralentissement de l'activité et de la multiplication des formes tissulaires, mais ne les inhibe nullement : l'incubation est prolongée, le maximum est abaissé, mais il se produit des oscillations des courbes et un allongement parfois considérable de la durée de l'infection.

4^o Il s'ensuit que si l'on mesure la surface circonscrite par les courbes, on constate, qu'en définitive, chez les souris traitées, le nom-

bre total des trypanosomes du sang est égal ou même très supérieur à celui des témoins. Cette action exaltante est particulièrement marquée dans le cas de la nivaquine et, à un moindre degré, de l'auréomycine.

5° Ce phénomène ne peut s'expliquer par une action toxique sur l'hôte, puisque les souris guérissent de leur infection et survivent ensuite indéfiniment.

6° Bien que la souche de *T. cruzi* donne une infection spontanément curable chez les témoins, le traitement neutralise le processus d'immunité et retarde la guérison.

7° Des recherches préliminaires nous ont montré que la lomidine et le 7602 ne parviennent ni à stériliser les triatomines infectés gorgés sur des souris neuves traitées, ni à empêcher l'infection de triatomines neufs gorgés du sang à la fois parasité et saturé par ces produits. D'autre part, l'inoculation à la souris par scarification de formes métacycliques provenant de triatomines infectés sur une souris parasitée ayant reçu une injection massive soit de 7602, soit de nivaquine, a démontré une exaltation considérable de la virulence de la souche : mort avec un nombre de trypanosomes incomptables au lieu de 30 par champ chez les témoins.

BIBLIOGRAPHIE

BROWNING (C. H.), CALVER (K. M.), LECKIE (M. W.) et WALLS (L. P.). — Phenanthridine Compounds as chemotherapeutic agents in experimental *Trypanosoma cruzi* Infection. *Nature*, London, CLVII, 1946.

BROWNING (C. H.), MORGAN (G. T.), ROBB (J. U. M.) et WALLS (L. P.). — The Trypanocidal Action of certain Phenanthridium compounds. *Jl. Bact. Path.*, XLVI, 1938, p. 203.

FULTON (J. D.). — A comparison of the biological action of Bayer 7602 (A.C.) and the corresponding I.c.i. synthetica product. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, XXXVII, 1943.

GALLIARD (H.) et BOUTET (R.). — Effets de certains produits chimiothérapeutiques sur l'évolution chez la souris d'une souche non létale de *Trypanosoma cruzi*. *V^e Congrès International de Microbiologie*, Rio-de-Janeiro, 17-24 août 1950.

GOBLE (F. C.). — Chemotherapeutic activity of certain 8-amino-quinoléine particularly Pentaquine in experimental Chagas'Disease. *J. Parasit.*, V, 1949, p. 375.

HAUSCHKA (T. S.). — Persistence of strain specific behaviour in two strains of *Trypanosoma cruzi* after prolonged transfer through subbred mice. *J. Parasit.*, XXXV, Sect. I, p. 593.

JARPA (A.), CHRISTEN (R.), AGOSIN (M.) et PIZZI (T.). — Ensayos de quimiotherapy en la enfermedad de Chagas experimental. Aureomycina. *Boletin de Informaciones Parasitarias Chilenas*, IV, 1949, p. 49.

JARPA (A.), CHRISTEN (R.), AGOSIN (M.), PIZZI (T.) et CORTÈS (G.). — Ensayos de quimioterapia en la enfermedad de Chagas experimental. IV. Comuesto de quinina, Pentaquina, Cloroquina y Quinina. *Boletin de Informaciones Parasitarias Chilenas*, V, 1950, p. 19.

JARPA (A.), CHRISTEN (R.), AGOSIN (M.) et PIZZI (T.). — Ensayos de quimioterapia en la enfermedad de Chagas experimental. II. Estreptomicina y Cloromicetina. *Boletin de Informaciones Parasitarias Chilenas*, V, 1950, p. 5.

JARPA (A.), CHRISTEN (R.), AGOSIN (M.) et PIZZI (T.). — Ensayos de quimioterapia en la enfermedad de Chagas experimental, III, T.B. 1. *Bol. de Inform. Parasitarias Chilenas*, V, 1950, n° 2, p. 18.

JENSCH (H.). — Neue chemotherapeutica der 4-Amino-Chenolin Reihe. *Angewandte Chemie*, XXVII, 1937, p. 891.

KOFOID (A.), NEIL (E. M.) et DWOOD (F.). — Effects of Arsenicals on *Trypanosoma cruzi* in tissue culture. *Journ. Pharm. Experim. Therap.*, LIX, n° 4, 1937.

MAZZA (S.), COSSIO (R.) et ZUCCARDI. — Primer caso agudo de Enfermedad de Chagas comprobado en Tucuman y su tratamiento con Bayer 7602 (A.C.). *Universidad de Buenos-Aires, M.E.P.R.A.*, XXXII, 1937, p. 3.

MAZZA (S.). — Die Behandlung der akuten Chagas Krankheit mit 7602 (A.C.) Bayer. *Deutsch. Trop. Zeitschr.*, XLV, 1941, p. 577.

MAZZA (S.), BASSO (G.) et BASSO (R.). — Ensayos terapeuticos del producto 9736 (A.S.) Bayer y de su action comparada con el 7602 (A.C.) Bayer en la enfermedad de Chagas. *Universidad de Buenos-Aires, M.E.P.R.A.*, LXI, 1942, p. 3.

MAZZA (S.), FREIRE (R.) et SALICA (P.). — Investigationes sobre enfermedad de Chagas. Formas encefalicas primitivas y secundarias de enfermedad de Chagas, considerable gravedad del proceso y tratamiento adecuado con 7602 (A.C.) Bayer. *Universidad de Buenos-Aires, M.E.P.R.A.*, LX, 1942, p. 32.

MAZZA (S.), BASSO (G.) et BASSO (R.). — Contribution para la therapeutica de la enfermedad de Chagas. Ultimos essayos quimiotherapicos M. 3024 I.c.i. Application de Penicillina. *Universidad de Buenos-Aires, M.E.P.R.A.*, LXX, 1945, p. 1.

NEGHME (A.). — Penicillin sodium in experimental Trypanosomiasis of Mice. *Science*, II, 1945, p. 115.

OESTERLIN. — Beiträge zur chemotherapie des Germanins und der Arsinauren. *Centralbl. f. Bakter.*, CXCV, 1935, p. 347.

TALICE (R. V.). — Penicillin attempted in acute form of Chagas disease. *Arch. Urug. Med. Cir. Espec.*, XXVII, 1945, p. 152.

TALICE (R. V.) et LOPEZ FERNANDEZ (J.). — First attempts at treating acute forms of Chagas disease with new arsenical « Arsenosophenylbutyric-acid ». *Arch. Urug. Med. Cir. Espec.*, 1945, p. 33.

TORREALBA (F. J.). — Penicillin and *Schizotrypanum cruzi*. *Gac. Med. de Caracas*, LIII, 1945, p. 175.

(Faculté de Médecine de Paris, Institut de Parasitologie)
(Dir. : Prof. H. Galliard)

LA PROGÉNÈSE CHEZ LES TRÉMATODES DIGÉNÉTIQUES

(suite)

Technique et recherches personnelles

Par Alice BUTTNER

III. TECHNIQUE

Détection des gîtes et des animaux infestés. Réserves d'animaux neufs servant d'hôtes expérimentaux et biologie des élevages. Techniques d'observation sur le vivant. Techniques de fixation et de coloration des distomes : coupes et préparations in toto. Techniques particulières à l'étude de la progénèse : action de la lumière, de la température ; étude des kystes mélancifères ; digestion artificielle des tissus et culture de métacercaires non encore progénétiques sur différents milieux.

Un problème constant se pose, au cours de l'expérimentation chez les trématodes, c'est celui de l'identification certaine du parasite étudié chez les différents hôtes où il poursuit son évolution.

En particulier, dans l'étude du déterminisme de la progénèse qui fait l'objet de ce mémoire, il nous a fallu mettre au point une technique de travail suffisamment précise pour pouvoir, à tous moments, suivre le développement expérimental de nos distomes et ne le point confondre avec les infestations spontanées préexistant chez l'hôte.

Nous avons eu plusieurs fois l'occasion de constater l'incertitude qui pèse sur certains résultats, du fait que l'auteur n'a pas spécifié s'il utilisait des animaux neufs d'élevage ou des hôtes pris dans la nature et par conséquent susceptibles de présenter des infestations spontanées, étrangères à celle qu'il poursuit expérimentalement.

La même incertitude existe lorsqu'un observateur identifie avec soin une cercaire particulière, après plusieurs semaines d'examen minutieux, et donne ensuite un pourcentage d'infestation des mollusques parasités dans la nature par la même cercaire. Il est évident qu'on ne peut, pour chaque animal infesté, refaire une étude morphologique aussi détaillée

de la cercaire qu'il émet ; il n'y a donc là qu'une probabilité d'infestation, basée sur une approximation morphologique, probabilité qui est peut-être très loin de la réalité, car la même espèce de mollusque peut héberger un grand nombre de cercaires appartenant au même groupe, mais à des espèces de trématodes essentiellement différentes. Ces cercaires sont souvent très difficiles à distinguer les unes des autres. Aussi, ne ferons-nous appel aux statistiques d'infestation spontanée qu'avec une extrême réserve, à moins qu'il ne s'agisse d'un parasitisme par métacercaires, stade auquel le distome est parfois assez évolué pour donner lieu à une détermination générique.

Nous nous étendrons un peu plus longuement, au cours de ce chapitre, sur la constitution de réserves d'hôtes expérimentaux indemnes de toute infection et sur l'étude de leur biologie, qui, pour n'être pas une part très spectaculaire de nos recherches, n'en représentent pas moins leur base essentielle, celle qui a nécessité, sans défaillance, nos efforts et notre attention.

Gîtes explorés. Récolte des animaux infestés

Nous nous sommes appliquée à rechercher, chaque fois que cela nous a été possible, des souches vivantes de trématodes présentant le phénomène de la progénèse, afin de pouvoir comparer leur processus d'évolution.

— Le phénomène nous est apparu pour la première fois à la Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire) chez *Paralepoderma* (= *Plagiorchis*) *brumpti* (A. Buttner 1950), espèce nouvelle que nous avons trouvée au stade de métacercaire progénétique chez des têtards d'*Alytes obstetricans* parasités par des cercaires de *Planorbus planorbis* ; ces mollusques ont été récoltés dans des petits canaux de drainage du Domaine Universitaire où se trouve la Station.

— Parmi les autres gîtes où nous avons récolté notre matériel, nous avons été parfois surprise de constater la pérennité de certaines infestations d'un caractère cependant si particulier. C'est ainsi que nous avons pu retrouver chez 2 discoglosses sur 18, provenant du Jardin d'Essais d'Alger, les métacercaires progénétiques de *Ratzia joyeuxi*, découvertes par E. Brumpt dans ce même gîte en 1922. Pour étudier l'évolution de ce parasite, nous avons obtenu, d'autre part, des *Melanopsis* des environs de Biskra (Algérie) et du Maroc.

— Dans les petits ruisseaux du Bois de Boulogne qui bordent et traversent l'allée de Longchamp, de la Porte-Maillot au lac supérieur, nous avons retrouvé chez des *Gammarus pulex* L., ainsi que chez un nouvel hôte, la larve de *Sialis lutaria* (némoptère, planipenne), les métacercaires progénétiques de *Pleurogenes medians*

(Olss.), découvertes dans ce gîte, en juillet 1924, par P. Mathias. Nous avons en outre récolté dans les fonds vaseux plusieurs centaines de *Bitynia tentaculata*, mollusque abritant dans 12-15 p. 100 des cas la cercaire « virgule » donnant naissance à ce distome. Nous avons reçu du Maroc (1) une demi-douzaine de *Chameleon vulgaris*, chez lesquels nous avons pu suivre l'évolution de ce parasite aussi aisément que chez des batraciens anoures ou urodèles.

— A Saint-Jean-de-Losne (Côte d'Or), en avril 1932, le regretté P. Paris avait observé dans la masse viscérale de *Planorbis planorbis* (L.), récoltés dans les marais environnants, des métacercaires enkystées et libres, toutes progénétiques ; d'autres métacercaires plus petites et plus jeunes ne renfermaient pas encore d'œufs. Nous avons pu obtenir du même gîte des *Planorbis planorbis* (L.) (2) qui présentent des métacercaires non progénétiques, enkystées dans les viscères, et qui, morphologiquement, ont une grande ressemblance avec celles découvertes par Paris et décrites à cette époque par R.-Ph. Dollfus.

— Nous avons également reçu (3), des environs de Rennes, où Pontallié a signalé en 1851, chez des tritons, une métacercaire progénétique rapportée par lui à *Distoma crassicolle* Rud. 1809 [= *Brachycelium salamandrie* (Frölich 1789)], une trentaine de jeunes tritons que nous avons conservés à fin d'autopsie.

— Enfin, nous avons recherché dans certaines régions pluvieuses (Normandie, environs de Paris, Indre-et-Loire) de jeunes oiseaux encore au nid, susceptibles de présenter des kystes de *Collyriclum faba* (Bremser, in Schmalz, 1831), ainsi qu'un certain nombre de mollusques terrestres hébergeant vraisemblablement la cercaire de ce trématode dont l'évolution, encore inconnue, s'apparente peut-être à la progénèse. Nous ne pourrons ici qu'ébaucher cette étude dont la substance fera elle-même l'objet d'un travail ultérieur.

Nous avons dû renoncer à l'étude sur le vivant des *cercaires progénétiques*, les quelque 200 mollusques prosobranches américains, vecteurs de ces distomes, que nous n'avons pu recevoir en temps utile, s'étant révélés indemnes d'infestation. Nous nous sommes donc bornée à les examiner sur préparations fixées et colorées (4).

(1) Ces animaux nous ont été procurés par l'obligéant intermédiaire du Docteur A. Maurice, Chef de Service à l'Institut d'Hygiène de Rabat.

(2) Aimablement récoltés par M. Bitsch, assistant du Professeur Denis, de la Faculté des Sciences de Dijon, que nous remercions pour son obligéant concours.

(3) C'est au Dr Patay, de Rennes, que nous devons d'avoir pu étudier cet intéressant matériel, et nous lui exprimons ici nos sincères remerciements.

(4) Provenant des collections de Mrs. M. W. Horsfall.

Réserve et élevage d'animaux neufs

Nous avons déjà signalé l'importance des hôtes expérimentaux neufs pour l'étude du développement d'un distome ou pour élucider son cycle évolutif. La constitution de ces réserves doit être souvent prévue fort longtemps à l'avance. Elle porte sur les trois catégories d'hôtes favorisant normalement les trois stades de développement des trématodes digénétiques : cercaire, métacercaire et adulte.

Première catégorie : les mollusques : technique d'élevage

Les trématodes digénétiques ont une spécificité très marquée pour leur premier hôte intermédiaire et on peut admettre, en règle générale, que les espèces d'une même famille évoluent toujours chez des mollusques appartenant au même ordre. C'est ainsi que toutes les espèces d'*Opisthorchiidae* et d'*Heterophyidae*, par exemple, parasiteront des gastéropodes prosobranches, tandis que celles des *Plagiorchiidae* n'infesteront que des pulmonés.

La biologie de ces divers mollusques est assez différente et il est nécessaire, pour posséder en temps opportun des exemplaires jeunes, mais suffisamment évolués pour résister aux infestations expérimentales, de connaître à la fois leurs conditions d'élevage, leur époque de ponte et leur durée de développement. Nous avons pu nous familiariser avec ces techniques d'élevage grâce aux souches de schistosomes que nous conservons au laboratoire depuis plusieurs années sur des mollusques pulmonés des genres *Bullinus* et *Planorbis*.

Nous avons utilisé pour nos expériences sur la progénèse les mollusques suivants dont nous avons obtenu l'élevage : *Planorbis planorbis* L. (gastéropode pulmoné), *Bithynia tentaculata*, *Melanopsis* (gastéropodes prosobranches).

Les planorbes (*Planorbis planorbis*) sont élevés dans des cuves de 5 litres, d'un diamètre de 20 cm. environ. L'eau de Seine au pH assez élevé (7,1) est généralement préférable à l'eau potable. Cette eau est chambrée en hiver, afin d'éviter de brusques refroidissements de température lorsqu'on change l'eau. Des plantes aquatiques (*Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Potamogeton*, et surtout certaines conservacées) flottent dans le bocal et l'oxygène dégagé conserve à l'eau sa pureté. Des feuilles mortes retirées des ruisseaux ou des bassins sont soigneusement séchées et exposées au soleil, après en avoir éliminé tout organisme vivant (mollusques, sangsues, etc...). Elles sont alors déposées dans le fond des cuves et se décomposent lente-

ment, servant d'aliment aux planorbes qui rampent volontiers sur elles. On peut ajouter un peu de salade crue, fraîche ou séchée, dont ils ne se nourrissent d'ailleurs qu'accessoirement.

Les cuves sont placées dans de grandes armoires, chauffées par des ampoules électriques en hiver et bien exposées au midi. La température moyenne doit être de 18 à 20° C. L'eau n'est changée que tous les trois ou quatre jours, l'exposition à la lumière et la présence de végétaux aquatiques lui assurant une bonne aération.

Les pontes sont déposées sur les parois du bocal et la disposition des œufs sur un seul plan, en une masse ovalaire, est caractéristique. Elles se produisent au printemps et en été. Quand les parois du verre en sont assez abondamment couvertes, on sépare ces pontes des adultes qui, sans cette précaution, les dévorent presqu'aussitôt. Il reste à surveiller le développement des jeunes, plus sensibles aux eaux légèrement polluées, qui se produit en 4-6 semaines ; pour ne pas perdre les mollusques venant d'éclore, lorsque l'eau est changée, on verse le contenu du bocal dans un filet en soie à bluter que l'on retourne et plonge ensuite dans la cuve à nouveau remplie d'eau.

Pour la conservation des mollusques parasités, la technique est la même ; toutefois, il faut veiller avec plus de soin à l'aération et la pureté de l'eau et retirer immédiatement les spécimens qui meurent.

Les *Bithynia* ont été placés dans une grande cuve rectangulaire en verre, de 90 cm. de long sur 40 cm. de large et 30 cm. de haut, bien exposée au soleil dans une pièce chauffée. Le fond de la cuve était tapissé de sable et de gravier, recouvert par une boue riche en diatomées et végétaux en décomposition ; de nombreuses feuilles mortes, préalablement séchées, s'y trouvaient également, ainsi que des végétaux aquatiques prélevés dans un bassin privé de mollusques. Dans ces conditions, les *Bithynia* se sont admirablement développées et les parois de la cuve étaient couvertes de leurs pontes allongées dès le début du printemps. L'eau restait limpide et il suffisait de remplacer de temps en temps ce qui disparaissait par évaporation. En six semaines à deux mois, les petites *Bithynia* peuvent être utilisées pour des infestations expérimentales.

Bien que végétariens, ces animaux sont également carnivores et on les voit souvent dévorer le corps d'un animal mort.

Les *Melanopsis* ont été conservés dans les mêmes conditions que les *Planorbis planorbis* ; toutefois, ils ne subsistent que dans une eau très aérée et courante ; une petite pompe nous a permis d'obtenir ce résultat ; l'eau était changée chaque jour, et seules des feuilles mortes et des herbes aquatiques servaient de nourriture.

Observons que ces divers mollusques vivent dans la nature à des températures inférieures ou supérieures à celle maintenue au laboratoire, qui nous paraît réaliser les conditions optima pour un développement rapide. Ces animaux présentent aussi spontanément une très grande résistance à la dessiccation. Remarquons en particulier que les *Planorbis planorbis* récoltés dans les canaux de drainage de Richelieu vivent en anhydrobiose pendant une grande partie de l'année (juin à novembre).

Deuxième catégorie : batraciens larvaires et larves d'insectes

Pour suivre, chez le second hôte intermédiaire, l'enkystement de la cercaire, il nous a fallu, suivant les cas, des têtards de batraciens ou des larves d'insectes.

Nous avons prélevé au Bois de Boulogne et de Vincennes, et dans le Domaine de Richelieu, des pontes de divers batraciens dès la fin de mars ou le début d'avril : c'est ainsi que nous avons pu avoir à notre disposition des têtards de grenouilles rousses et agiles, de crapauds, de tritons et même de discoglosses, indemnes de toute infestation vermineuse. Ces têtards, nourris de boue à diatomées ou de viande, ont été conservés dans différents bassins du Domaine de Richelieu ou de la Faculté de Médecine de Paris ; certains d'entre eux (*Alytes obstetricans*), provenant d'une ponte tardive, maintenus à une température assez basse et dont la nourriture était volontairement peu abondante, ont pu être aisément conservés à l'état de têtards pendant plus d'un an.

Nous avons constitué également une réserve de larves d'insectes, larves d'aédinés, de phryganes, de *Sialis*, d'éphémérides et d'odonates. Les larves de phryganes ont été bien conservées dans une vaste cuve en ciment, située sur une terrasse exposée au midi, largement alimentée en feuilles mortes, salade et en végétaux aquatiques. Les larves de *Sialis*, très cannibales, ont été placées dans des tubes isolés avec un peu de *Myriophyllum*, des *Asellus* et quelques fragments de feuilles mortes ; elles se sont ainsi maintenues à l'étuve à 25° pendant près de cinq mois. Les larves d'éphémérides et d'odonates, ainsi que les aselles ont été placées dans de vastes plateaux remplis de feuilles mortes.

Troisième catégorie : hôtes définitifs

Nous n'en dirons que peu de choses, puisqu'ils ne nous ont été que d'un assez faible secours au cours de nos recherches. Signalons

cependant, qu'en raison de la fréquence de leur infestation naturelle, nous nous sommes servis de préférence, soit d'animaux habituellement indemnes, les grenouilles rousses et agiles par exemple, soit d'espèces exotiques telles qu'*Ambystoma mexicanum* ou *Xenopus laevis*; nous avons conservé des poissons américains acclimatés en France et appartenant à la famille des *Centrarchidae*, *Macropterus salmoides*, en vue d'une évolution éventuelle de cercaires progénétiques; enfin, en ce qui concerne les reptiles, nous avons utilisé et conservé des caméléons, diverses couleuvres des genres *Coluber* et *Tropidonotus*, deux grandes couleuvres africaines du genre *Zamenis* et deux vipères qui sont malheureusement mortes avant que nous ayons pu les infester; nous les mentionnons cependant pour signaler que la vipère, protégée par sa vie terrestre des infestations par mollusques aquatiques, constitue un hôte de choix pour étudier l'évolution expérimentale des parasites de couleuvre (E. Brumpt, 1944-1945).

Techniques d'observation sur le vivant

Les mollusques parasités spontanément ou expérimentalement sont placés isolément dans des tubes à essais préalablement passés à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau, pour rendre les parois tout à fait transparentes. L'eau en est changée chaque jour. Les tubes sont exposés au soleil à une température de 20-25° et examinés quotidiennement pour contrôler l'émission des cercaires. Les mollusques infestés sont ensuite dénombrés pour établir les pourcentages d'infestation.

Le nombre des cercaires émises par un seul mollusque est ainsi calculé: on verse dans une éprouvette de 10 cc., d'un diamètre très étroit, un volume égal de l'eau contenant les cercaires, préalablement secouée pour homogénéiser leur répartition. Celles-ci sont dénembrées rapidement à la loupe dans toute la hauteur de l'éprouvette et en profondeur, ce qui est aisément en raison de son faible diamètre. Il suffit ensuite d'évaluer le volume total d'eau contenue dans le tube; une simple règle de trois donnera le nombre total de cercaires émises en 24 heures dans cette quantité d'eau.

Un autre procédé usité, lorsque la cercaire a une affinité certaine pour un hôte particulier, est la *xénarithmèse* (1): on expose un *animal-piège* (chironome ou têtard), chez lequel toutes les cercaires d'une espèce donnée s'enkystent et on calcule ensuite le nombre de kystes formés en 24 heures.

(1) Voir E. BRUMPT (1944-1945): Cycle évolutif d'*Opisthioglyphe ranæ*, p. 214.

L'étude morphologique de nos cercaires vivantes a été faite entre lame et lamelle, dans l'eau physiologique ou dans les sécrétions de

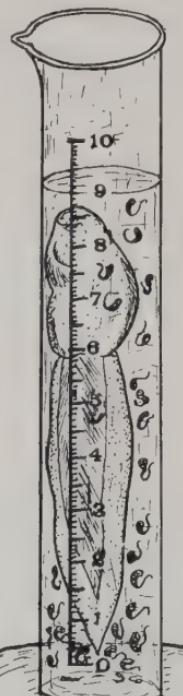


FIG. 27. — Technique d'infestation d'un têtard avec des cercaires à géotropisme positif. Technique d'évaluation approximative du poids d'un têtard



FIG. 28. — Technique d'observation rapide des tissus pour dénombrer les métacercaires.

l'hôte qui ne subissent qu'une lente évaporation. Elle n'a porté que sur des xiphidio cercaires des types *armata* et *virgula*. L'action des colorants vitaux, rouge neutre, vert de méthyle, bleu de Nil, nous a été aussi d'un secours précieux pour mettre en évidence certaines

structures. Les mensurations ont été exécutées sur des cercaires tuées par la chaleur à 60° et dans un tube à essais ou entre lame et lamelle, et après fixation au formol à 5 p. 100.

Cette étude a toujours été complétée par une étude biologique de la cercaire : *tropismes* particuliers, constants pour une espèce donnée ; phototropisme, thermotropisme, géotropisme, aérotropisme, stéréotropisme, xénotropisme, etc... Les rythmes d'émission, enfin le choix de l'hôte sont également caractéristiques : une première classification sommaire peut être établie entre les cercaires *entomophiles* et les cercaires *gyrinophiles* ou *malacophiles*. A l'intérieur de ces groupes, une spécificité plus étroite permet un *xénodiagnostic* plus précis.

L'étude de l'enkytisme a été pratiquée soit expérimentalement sur un hôte d'élection (têtard par exemple) (1), soit par certains procédés artificiels (enkytisme dans le milieu extérieur sous l'effet d'une solution concentrée de vert de méthyle, inoculation dans le péritoine ou le sac dorsal d'une grenouille de cercaires émulsionnées dans une eau huileuse, cercaires enfermées dans un petit sac de collodion introduit dans le sac dorsal pour observer l'action osmotique des sécrétions de l'hôte).

Technique d'autopsie et d'examen des animaux infestés

Avant de les autopsier, et dès le début des infestations, il est bon de connaître le poids des animaux mis en expérience, qui présente une grande importance quand on veut étudier le rôle pathogène de certaines cercaires : un animal petit peut être tué par quelques cercaires seulement, alors que des animaux plus gros en supportent un grand nombre sans être incommodés.

Nous nous sommes surtout servis, pour nos expériences, de têtards de batraciens, et parfois de poissons. Comme ces animaux, qui sautent et meurent souvent rapidement hors de l'eau, sont assez difficiles à peser sur un trébuchet et que leur poids spécifique est à peine supérieur à celui de l'eau, nous avons en général évalué leur poids par un procédé volumétrique, que nous décrivons ci-dessous :

Une éprouvette à pied de 10 cc. est remplie par 5-6 cc. d'eau ; l'animal y est introduit : le nombre de centimètres cubes dont s'est élevé le niveau d'eau dans l'éprouvette représente le nombre de grammes correspondant au poids de l'animal (fig. 27).

(1) Pour cela, on verse dans une éprouvette de 10 cc. un peu d'eau portant en suspension le nombre de cercaires voulu. Suivant que ces cercaires ont un géotropisme positif ou négatif, on place le têtard dans l'éprouvette, la tête en haut ou en bas, afin qu'il en ingère le moins possible (fig. 27).

Si celui-ci est très petit (très jeunes têtards d'*Alytes*, de *Rana* ou de *Triton*), on met dans l'éprouvette 10 ou 20 de ces petits batraciens, et l'on divise l'augmentation de volume dans l'éprouvette par le nombre des animaux introduits pour obtenir leur poids individuel moyen.

Ce procédé n'a pas une rigueur absolue, mais il est pratique et permettrait à de nombreux expérimentateurs d'évaluer approximativement le poids des animaux utilisés, renseignement qui apporte un élément toujours utile à connaître dans l'étude des rapports entre l'hôte et son parasite.

Après une autopsie rapide, les tissus sont écrasés entre deux lames maintenues aux deux extrémités par de fortes pinces (fig. 28). Pour examiner les mollusques, on les broie délicatement vers l'extrémité des deux lames ; le corps de l'animal est lavé dans l'eau physiologique et débarrassé des débris de la coquille, puis comprimé à nouveau entre deux lames propres ; les sporocystes sont ainsi parfaitement visibles dans la masse viscérale et l'anatomie du mollusque entièrement respectée permet de localiser aisément les points d'infestation. Chez certains animaux à téguments foncés (têtards de crapauds) ou épais (jeunes tritons terrestres, sangsues, etc...), les tissus sont finement hachés, avant d'être comprimés entre deux lames, afin de libérer le plus grand nombre possible de métacercaires.

Infestation des hôtes définitifs

Elles ont consisté à faire ingérer à différents animaux (couleuvres, grenouilles, discoglosses, tritons, caméléons) le plus grand nombre possible de métacercaires, généralement encore incluses dans les tissus. Un moyen pratique de faire avaler un grand nombre de ces parasites est de les réunir avec leurs débris tissulaires dans un morceau de peau de jeune grenouille que l'on introduit ensuite profondément dans l'œsophage de l'animal à infester.

Techniques de fixation et de coloration : préparations *in toto* et coupes

Le matériel conservé a été fixé dans le liquide de Bouin, l'alecool-formol, le formol à 5 p. 100.

Les préparations *in toto* de distomes progénétiques ont été ainsi effectuées : pour sortir la métacercare de son kyste, on absorbe légèrement, sur l'un des bords de la lamelle, avec un papier filtre,

le liquide où baigne la métacercaire préalablement isolée, de façon à lui imprimer une légère pression qui suffit en général à faire éclater le kyste ; sur une autre lamelle, on dépose une goutte d'alcool-formol et on la substitue rapidement à celle qui recouvre la métacercaire et qui est détachée en rajoutant par capillarité, à la pipette, un peu d'eau physiologique. La lame est alors portée dans une boîte de Pétri et un petit poids est déposé sur la lamelle (1). On verse dans la boîte de l'alcool-formol jusqu'à submersion de la lamelle ainsi maintenue, et on laisse agir le fixateur pendant deux heures environ. Le distome aplati est alors lavé dans l'eau distillée, puis dans l'alcool à 70°. La coloration est faite au carmin chlorhydrique, ou à l'hémalun qui donne des préparations plus nuancées, par les techniques habituelles.

Les métacercaires progénétiques de *Pleurogenes medians* présentent certaines difficultés, du fait qu'elles sont enveloppées d'une triple enveloppe kystique, dont la plus externe est souvent chitineuse. Les deux enveloppes internes sont très résistantes et le distome, après rupture mécanique des kystes, est généralement à demi lysé ou fortement endommagé. Nous avons dû procéder à la digestion artificielle des kystes par de la pepsine chlorhydrique ; on opère sous le microscope et on arrête l'opération aussitôt que la métacercaire est libérée. On aspire alors la solution d'un côté de la lamelle, tandis qu'on y introduit de l'autre, avec une pipette, de l'eau physiologique. Nous avons également utilisé, quand nous possédions assez de métacercaires, le suc gastrique naturel, en faisant ingérer un fragment de tissu très parasité à un gros têtard ; l'animal était tué deux heures plus tard, et nous retrouvions les distomes libérés de leurs kystes dans le tube digestif.

Les coupes ont été effectuées soit sur des métacercaires isolées, soit sur des métacercaires incluses dans les tissus. Les premières ont été faites sur 7 et 10 μ , ces dernières donnant fréquemment des préparations plus lisibles ; les coupes de kystes inclus dans les tissus sont de 7 μ . Les colorations les plus fréquemment employées par nous sont celles à l'hémalun-éosine ; quelques-unes ont été colorées à l'hémalun-éosine orange qui nous a donné, pour l'étude du processus de la fécondation, une meilleure différenciation cellulaire ; trois ou quatre coupes de *Ratzia joyeuxi* ont été colorées par la méthode de Mann au bleu de méthyle-éosine, qui donne également une bonne différenciation histologique.

(1) Ces poids sont constitués par des balles de plomb aplatis ou par de petits anneaux de plomb de 15-18 mm. de diamètre, 2-3 mm. d'épaisseur, 3-5 mm. de hauteur. Ces anneaux sont aisément confectionnés en sciant des tuyaux de plomb de diamètre variable ; on peut ainsi en faire varier les dimensions suivant la fragilité plus ou moins grande du matériel fixé. L'avantage de ces anneaux est de permettre de contrôler à la loupe l'état des distomes en cours de fixation.

Techniques particulières à l'étude de la progénèse

En dehors des examens sur coupes, nous avons déjà parlé de procédés de digestion artificielle des tissus destinés à isoler les kystes métacercariens sans léser le distome. Certaines métacercariaires (*Pleurogenes medians*) se développent souvent dans des kystes chitineux inscrustés de pigments mélaniques. En dépit de cette enveloppe, il est remarquable de constater que le distome se nourrit parfaitement par osmose et que, dans un cas, nous avons pu compter dans une telle métacercaire plus de 150 œufs.

Il eût été intéressant de pouvoir déterminer la nature histochimique de cette membrane et son identité éventuelle avec les masses mélaniques disséminées çà et là dans le corps de l'insecte. Nous n'avons pu achever cette étude qui est en cours. Signalons simplement que Schülze, cité par Lison, admet que la chitine, dans les organismes animaux, se trouve inscrustée de pigments mélaniques. Les procédés que nous utilisons tendent donc à mettre en évidence la nature des incrustes et à déceler ensuite la chitine. Nos essais de dépigmentation par différents oxydants, réaction caractéristique des mélanines, ne nous ont pas donné de résultats concluants ; nous essayons la réaction argentaffine de Masson, réduction du nitrate d'argent ammoniacal sans intervention d'aucun réducteur. Pour déceler la chitine, Schülze a montré qu'après un traitement par le diaphanol (acide chlor-dioxyacétique), qui dissout les incrustes, la chitine donne régulièrement une coloration intense avec le chlorure de zinc iodé, qui constitue un bon réactif pour divers polysaccharides. Nous ne pouvons que signaler ici ces premiers essais expérimentaux qui sont encore inachevés.

Pour étudier l'action de différents éléments chimiques ou biologiques sur le développement du distome enkysté, nous avons cultivé des métacercariaires de *Pleurogenes medians* sur plusieurs milieux (NNN, milieu sucré de Galliard, sérum de cheval et Ringer, milieux à l'œuf + Ringer, gélose nutritive, eau peptonée (1), etc...). Les cultures ont été réalisées soit en tube, soit en chambre à huile. Les cultures en tube comportaient des métacercariaires jeunes, obtenues expérimentalement chez les larves de phrygane, incluses dans de petits fragments de tissu conjonctif. Les larves de phrygane, sommairement désinfectées par un séjour de quelques minutes dans l'eau oxygénée, puis dans l'alcool à 70°, étaient soumises à plusieurs lavages dans de l'eau physiologique stérile. Après dissection

(1) Nous remercions le Dr Lamy, Assistant du Dr Deschiens à l'Institut Pasteur, qui a bien voulu nous doser et nous préparer ces milieux.

avec deux aiguilles flambées sous le binoculaire, les fragments les plus riches en métacercaires ont été ensemencés dans les différents milieux. Pour cultiver des métacercaires isolées, nous avons constitué une chambre à huile de la manière suivante : une lame de verre assez large porte deux petits montants de verre de couleur, d'une longueur légèrement inférieure à la largeur de la lame. Disposés parallèlement et fixés au soude-grès à leur support, ils sont distants de 2 cm. (fig. 29).

Les métacercaires (au nombre de 2 ou 3) étant isolées dans de l'eau physiologique stérile, on dépose sur une lamelle 22×32 , préalablement lavée et brossée à l'eau et au savon, puis passée à la flamme, une goutte du milieu de culture ; on prélève aseptiquement

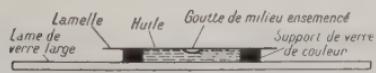


FIG. 29. Chambre à huile pour culture d'une ou de quelques métacercaires (vue en coupe médiane).

avec une pipette stérile les trois métacercaires isolées avec le minimum d'eau physiologique, et on les rejette dans la goutte de milieu déposée sur la lamelle, le plus près possible du verre. On recouvre le tout d'une large goutte d'huile de paraffine, puis on retourne la lamelle et on la dépose sur les supports en verre. On introduit alors entre les deux supports, sous la goutte pendante, de l'huile de paraffine, jusqu'à ce qu'il se forme une nappe homogène qui entoure de toute part la goutte de milieu contenant les métacercaires. On peut ainsi, à tout moment, porter la chambre à huile sur la platine du microscope et suivre l'évolution des kystes cultivés. Pour renouveler le milieu, il suffit d'effiler une pipette, de la couder à son extrémité à la flamme d'une veilleuse. On introduit à plat, entre les deux supports, la pipette ainsi coudée, puis on la retourne pour que la partie coudée atteigne la goutte de milieu ensemencée ; on aspire un peu du liquide sur les bords, puis, avec une seconde pipette coudée et stérile, on injecte, par le même procédé, du milieu neuf autour des kystes en culture. Ce procédé, un peu délicat à mettre au point, permet de suivre avec sûreté le développement d'une seule métacercaire. On peut confectionner ainsi toute une série de chambres à huile et comparer l'action de différents produits biologiques utilisés séparément et simultanément, dans les mêmes conditions, sur des métacercaires du même âge.

IV. RECHERCHES PERSONNELLES

Au cours de nos recherches, nous avons étudié principalement trois souches de trématodes progénétiques. En ce qui concerne les autres cas de progénèse, nous n'avons observé que le stade progénétique, soit sur le vivant, soit sur préparations fixées et colorées, sans avoir pu en suivre l'évolution.

Deux de ces souches représentent des cas de progénèse obligatoire ; nous disons bien obligatoire et non habituelle, car toutes les métacercariaires, même celles qui restent naines ou plus ou moins atrophiques, présentent des œufs dans leur utérus après un temps d'évolution suffisant.

La première est celle de *Paralepoderma brumpti* que nous avions désignée, lors de sa découverte, sous le nom générique de *Plagiorchis*, mais que nous préférons ranger, pour des raisons morphologiques que nous justifierons plus loin, dans le nouveau genre créé récemment par R.-Ph. Dollfus (1950), *Paralepoderma* (1).

Nous avons pu suivre l'évolution de cette espèce nouvelle jour après jour ; elle nous a permis de démontrer expérimentalement, pour la première fois, la réalité d'un cycle abrégé à deux hôtes, le stade progénétique s'étant révélé, morphologiquement et physiologiquement, l'équivalent de l'adulte (2).

La seconde est celle de *Ratzia joyeuxi* (E. Brumpt 1922) (famille des *Opisthorchiidae*), existant encore 28 ans plus tard dans le même gîte, sur le même hôte, bien qu'avec une moindre fréquence. Cette espèce, dont nous tentons le cycle restreint, a été étudiée plusieurs fois depuis sa découverte. Nous essaierons de démontrer que, pour ces deux espèces, le déterminisme de la progénèse dépend vraisemblablement de facteurs héréditaires.

La troisième espèce, celle de *Pleurogenes medians* (Olss. 1876) (famille des *Lecithodendriidae*), est un cas très curieux de progénèse accidentelle. Ce phénomène est probablement d'origine héréditaire ; peut-être s'agit-il d'une race mutée, étant donné sa pérennité dans certains gîtes particuliers. W. Neuhaus (1940-1941), qui a étudié toute l'évolution de ce trématode en Allemagne, n'a jamais signalé la présence de métacercariaires progénétiques. Cependant, nous pensons que différents facteurs extérieurs, température, tissus d'un

(1) *Ann. Paras.*, XXV, 1950, p. 141-149.

(2) R.-Ph. Dollfus (1929) et P.-P. Grassé (1935, p. 67) ont signalé l'intérêt qu'il y aurait à démontrer expérimentalement l'existence de ce phénomène.

hôte particulier, produits du métabolisme, peuvent également avoir une action sur la manifestation de cette progénèse. Le problème si passionnant de la coexistence chez une même espèce d'une évolution normale à trois hôtes et d'un cycle abrégé à deux hôtes sera peut-être résolu si l'on parvient à obtenir chez des *Bithynia* neuves, infestées avec les œufs mûrs d'une métacercaire progénétique évoluée, des émissions de cercaires « virgule » de *Pleurogenes medians*.

A. *Paralepoderma brumpti* (A. Buttner, 1950)

Synonymie : *Plagiorchis brumpti* A. Buttner 1950

Conditions d'observation dans la nature de *Paralepoderma brumpti* (A. Buttner 1950)

C'est au début du mois d'août que nous avons aperçu pour la première fois, dans une cuve en pierre d'un mètre de diamètre, de la Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire, chez un têtard d'*Alytes obstetricans* (Laurenti), une très grosse métacercaire sortie de son kyste, mais non progénétique. Le lendemain, un second têtard de la même provenance fut examiné : il présentait, dans la profondeur du derme, trois métacercaires progénétiques enkystées, en tous points semblables à celle de la veille, l'une à la queue, la seconde dans la patte postérieure, la troisième dans la tête.

Nous avons dès lors exploré méthodiquement la cuve, qui contenait environ 100 litres d'eau et de nombreuses plantes aquatiques : en dehors des têtards d'*Alytes*, provenant d'une seule ponte effectuée, eu égard à leur taille, fin avril ou début mai, nous avons trouvé de nombreux têtards de *Molge palmata*, mais aucun hôte définitif ; cependant, une couleuvre à collier avait été capturée dans cette cuve un mois environ avant notre observation ; en outre, la sécheresse intense laissait prévoir la visite possible d'autres couleuvres ou de batraciens adultes ; des oiseaux de passage, des chauves-souris, des musaraignes ou autres rongeurs pouvaient y avoir laissé tomber des déjections.

En ce qui concerne la faune malacologique, cette cuve servait de réserve à un grand nombre de mollusques pêchés dans les cours d'eau, canaux ou mares résiduelles des alentours. Nous avons dénombré 6 *Planorbis corneus*, 150 *Planorbis planorbis*, 250 *Lim-*

næa palustris, 20 *Limnæa stagnalis*, 10 *Paludina vivipara*. Tous ces mollusques ont été isolés en tubes Borrel ou tubes à essais, et nous avons fini par découvrir, chez un seul *Planorbis planorbis*, la cercaire correspondant à nos métacercaires progénétiques.

Autopsie des porteurs naturels. Résultats des protocoles d'examen

1° *Têtards d'ALYTES* : Les métacercaires se trouvant localisées dans les muscles, en tous les points du corps, nous avons examiné les animaux écrasés entre deux lames, ainsi qu'il a été indiqué plus haut. Spécifions que, dans le cas présent, les têtards étaient déjà âgés de près de quatre mois et leurs téguments souvent très opaques ; nous avons examiné séparément la queue transparente, puis la tête isolée du corps et coupée sagittalement en deux moitiés égales, chaque moitié étant au préalable hachée ; dans la cavité générale, des métacercaires enkystées flottaient parfois librement. Nous avons extrait et observé les viscères, puis les muscles et les téguments hachés du reste du corps. Pour l'examen microscopique au fort grossissement, il est assez facile d'isoler les métacercaires à la loupe binoculaire ou même à l'œil nu : ce sont de petits kystes hyalins, ovoïdes ou sphériques, dépassant parfois le millimètre. L'enveloppe kystique est mince et il faut, pour examiner le trématode vivant, avoir soin de glisser entre la lame et la lamelle un cheveu ou une mince pellicule de tissu, afin de ne pas l'écraser. Il ne se prête d'ailleurs que peu de temps à l'examen direct (1/4 d'heure au plus dans du liquide péritonéal de têtard, préférable à l'eau physiologique), après quoi de grosses gouttelettes sarcodiques viennent sourdre au bord de la cuticule et l'animal se lyse presqu'aussitôt.

La plupart des têtards ainsi examinés présentaient de 3 à 10 ou 12 métacercaires progénétiques. Voici le détail de quelques protocoles :

25/VIII: TÊTARD 456/A.B.-I (1): — *moignon caudal* : 0 métacercaire progénétique. Nombreuses métacercaires type *Opisthioglyphe ranæ*.
 — *tête* : 0 métacercaire progénétique.
 — *tronc* : 3 métacercaires progénétiques enkystées grandes, avec nombreux œufs.
 — *patte* : 0 métacercaire progénétique.

(1) Tous les numéros d'expériences proviennent de notre cahier personnel d'expérimentation n° 1.

26/VIII : TÉTARD 463/A.B.-I : (sans pattes)

- queue : 1 métacercaire progénétique. Très nombreuses métacercaires type *Opisthioglyphe ranæ*.
- cavité générale + intestin : 1 métacercaire progénétique + métacercaires type *O. ranæ* et *Leptophallus nigrovenosus*.
- tronc : 1 grande progénétique.
- tête : 3 grandes + 5 petites, toutes progénétiques.

27/VIII : TÉTARD 509/A.B.-I :

- moignon caudal : 2 métacercaires progénétiques avec œufs abondants. Très nombreuses métacercaires type *O. ranæ*.
- tête : 1 grande métacercaire progénétique.
- 1/2 du corps : 3 progénétiques dont une avec 3 œufs seulement.
- 1/2 du corps : 5 progénétiques plus ou moins grandes.
- pattes : 0.

2° *Têtards de Molge palmata* : Tous ces animaux avaient encore leurs branchies ; nous montrerons plus loin qu'aussitôt après la métamorphose, les téguments deviennent plus durs et opposent à la pénétration des cercaires un obstacle presqu'infranchissable, ce qui explique la difficulté d'infestation des tritons adultes.

Au cours de la dissection de 23 de ces têtards, nous avons trouvé chez l'un d'eux un trématode de petite taille, rempli d'œufs, libre et non enkysté, très agile, que nous avons pris tout d'abord pour une seconde espèce de métacercaire progénétique. Il s'agissait en réalité d'un distome adulte, identifié par R.-Ph. Dollfus à *Opisthioglyphe ranæ* (Frölich 1791), dont l'évolution peut s'effectuer dans le tube digestif de têtards d'*Alytes obstetricans*, comme l'a démontré E. Brumpt, en 1944. Comme ce trématode a une évolution très lente, cette constatation nous permet d'affirmer que les têtards de cette cuve avaient au moins de 80 à 106 jours (la durée de ce cycle a été établie par Looss, 1894 ; Sinitzin, 1905-1907, et E. Brumpt, 1944).

Douze spécimens sur vingt-trois se sont montrés positifs pour les métacercaires progénétiques de *Paralepoderma brumpti*. Les métacercaires progénétiques des jeunes tritons étaient sensiblement moins grandes que celles des têtards d'*Alytes*, peut-être en raison de leur âge moins avancé, peut-être aussi parce que la nature de leur corps, un chimisme différent, constituaient un milieu moins favorable au développement des cercaires.

Isolement des mollusques

Le résultat de l'examen des mollusques peuplant la cuve et isolés en tube de verre a été le suivant :

- Sur 10 *Limnaea stagnalis* : 0 positive.
- Sur 250 *L. palustris* : 60 % émettaient de petites xiphidiocercaires vraisemblablement entomophiles.
- Sur 6 *Planorbis corneus* : 2 positifs (xiphidiocercaires entomophiles).
- Sur 10 *Vivipara vivipara* : 0 positive.
- Sur 150 *Planorbis planorbis* : 1 seul positif (= 527/A.B.), avec de grandes xiphidiocercaires.

Etude du développement

Démonstration expérimentale d'un cycle à deux hôtes

Après avoir émis pendant 12 jours des cercaires en nombre variable, le planorbe infesté (*Planorbis planorbis* 527/A.B.-I) est sacrifié et autopsié.

Sporocyste : L'autopsie fit apparaître un hépato-pancréas envahi par des sporocystes assez polymorphes, de couleur jaune orangé (fig. 30). De nombreux sporocystes apparaissaient également contre l'épiderme recouvrant la masse viscérale et sur le tube digestif. Signalons qu'à l'exception de 3-4 kystes du type *Xiphidiocercaria polyxena* Brumpt (1944-45), aucune métacercaire n'était présente, ni dans le pied, ni dans le manteau du mollusque.

De structure plus ou moins moniliforme et de taille inégale, ces sporocystes avaient une longueur moyenne de 1,5 mm.-2 mm. et une largeur de 0,25 mm., dans les zones renflées contenant les cercaires immatures (fig. 30). Peut-être les étranglements qu'ils présentent sont-ils le témoignage de la production par scissiparité des sporocystes fils. Ils sont fixés sur leur support par un pied de structure épaisse et granuleuse et renferment un nombre variable de germes (2 à 6), parmi lesquels ne se trouvaient pas de cercaires mûres. Nous n'avons pas observé de tocostome.

Cercaire : morphologie et biologie. Les cercaires émises pendant 12 jours étaient des xiphidiocercaires de grande taille (1 mm. de

FIG. 30. — Localisation et détail des sporocystes de *Paralepoderma brumpti* : à gauche, hépatopanréas bourré de sporocystes de l'unique *Planorbis planorbis*, trouvé parasité dans la nature (Richelieu, I.-et-L.) à droite, sporocystes isolés. (Orig.).

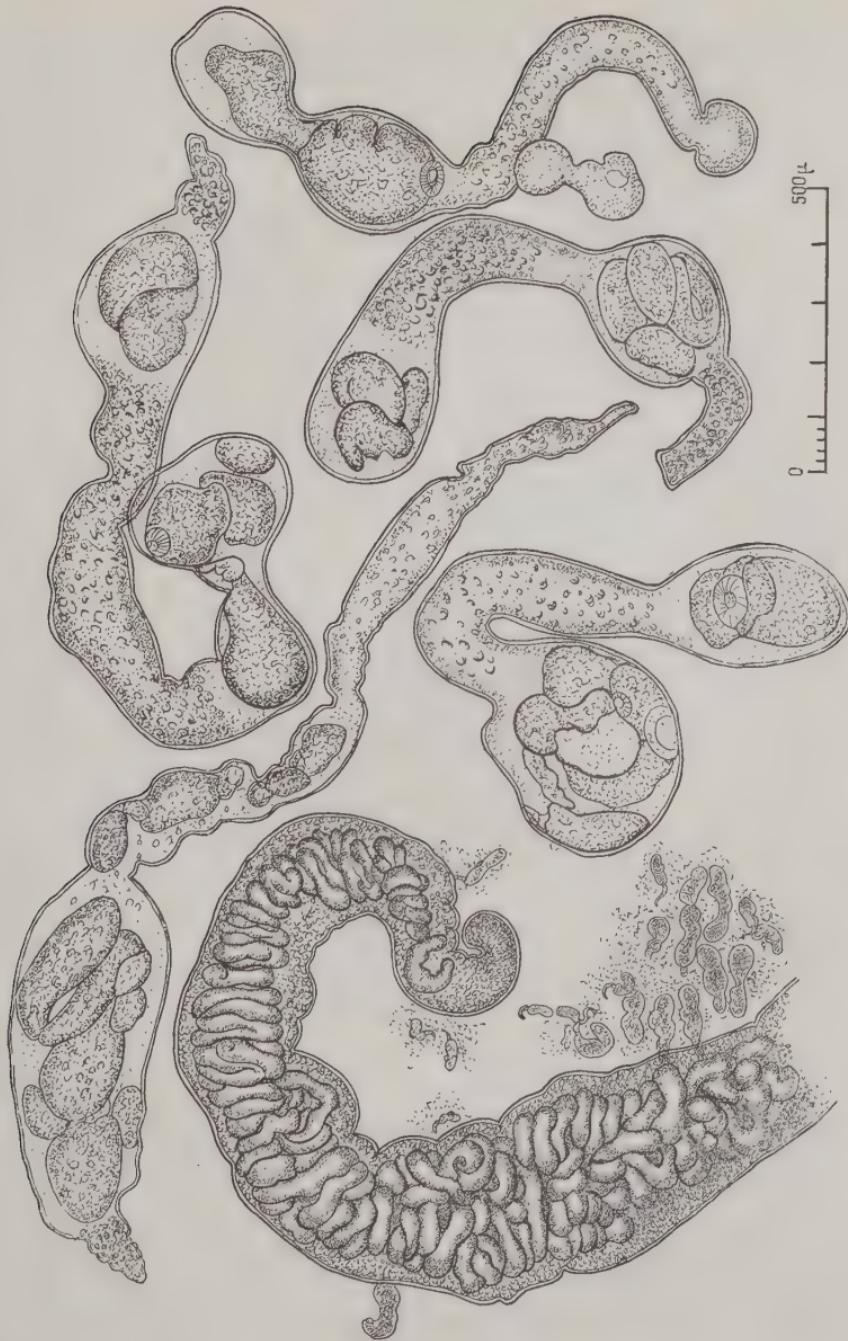


FIG. 30

long sur 250 μ de large en moyenne) (fig. 31). Les spécimens examinés, tués par la chaleur, présentaient les dimensions suivantes :

<i>Corps</i>	{ longueur	550 μ
	{ largeur	360 μ
<i>Queue</i>	{ longueur	510 μ
	{ largeur	50 μ (partie moyenne)
<i>Diam. vent. orale</i>	500 μ	
<i>acetabulum</i>	505 μ	
<i>Longueur stylet</i>	30-32 μ	
<i>Prépharynx</i>	10-12 μ	
<i>Pharynx</i>	20 μ	
<i>Œsophage</i>	20-30 μ	

Le tiers antérieur du corps est assez transparent et permet d'apercevoir le prépharynx, le pharynx, l'œsophage et la naissance des deux cœcum digestifs ; de chaque côté du corps, au-dessus de la ventouse ventrale, on aperçoit une masse de cellules appartenant aux glandes de pénétration et les canaux conduisant au stylet. Les deux ventouses sont de taille sub-égales. Le reste du corps est rendu opaque par la présence de glandes cystogènes ; néanmoins, la forme trilobée de la vésicule excrétrice est toujours bien visible et, sur l'une de nos cercaires, deux masses ovalaires, au-dessus de la vessie, semblaient des ébauches testiculaires. Nous n'avons pas réussi à voir de flammes vibratiles en raison de l'opacité de la cuticule, malgré l'emploi de colorants vitaux qui ralentissent les mouvements de la cercaire et finissent par l'immobiliser pendant un temps suffisant pour un examen soigneux au fort grossissement. La spinulation, visible sur la métacercaire, se percevait mal au stade cercaire, et nous ne saurions être sur ce point très affirmative.

Biologie : Comme toutes les cercaires armées, les cercaires de *P. brumpti* nagent sur le dos, la queue rabattue sur la face ventrale. Cependant, dès leur émission, elles tombent au fond du bocal ; de temps à autre, elles s'élèvent, nagent jusqu'à mi-hauteur du bocal, se laissent retomber à nouveau jusqu'au fond, enroulées sur elles-mêmes, comme de petits kystes. Ce caractère biologique est constant et nous l'avons retrouvé, lorsqu'après infestation expérimentale de *Planorbis planorbis* neufs, la première émission de cercaires s'est manifestée.

Pendant 12 jours, le planorbe 527, déjà infesté dans la nature depuis un temps indéterminé, a émis des cercaires à un rythme assez irrégulier. L'émission se produisait pendant la nuit à une température d'environ 25°, la pression atmosphérique étant d'en-

viron 80. La courbe marque un clocher au départ (150 cercaires le premier jour), puis elle oscille entre 30 et 70 cercaires les jours suivants, remonte à 100 cercaires le 7^e jour, pour retomber à 10 le 8^e jour et s'éteindre graduellement jusqu'au 12^e jour, date de l'autopsie du mollusque (fig. 32).

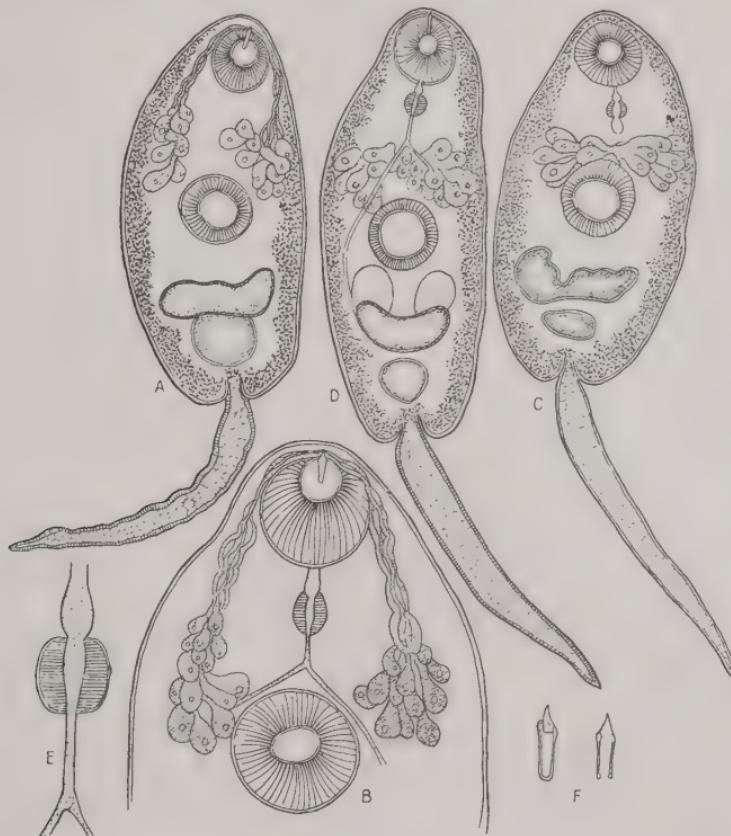


FIG. 31. — Cercaire de *Paralepoderma brumpti*. En bas, E, B, F, détails de la partie antérieure, du pharynx et du prépharynx, et du stylet. A, D, C, cercaires tuées par la chaleur, entre lame et lamelle. En D, on aperçoit l'ébauche des deux testicules. (Pour les dimensions, voir diagnose, p. 78). (Orig.).

Enkystement : La cercaire présente spontanément une tendance à l'enkystement, même en l'absence d'un hôte vivant. Nous avons obtenu sans peine, au bout de 30' (fig. 34), entre lame et lamelle, dans l'eau physiologique additionnée d'une goutte de solution concentrée de vert de méthyle, la formation d'un kyste après aban-



FIG. 33. — Enkystement expérimental sous l'effet du vert de méthyle dans l'eau physiologique. Cercaires de *Leptophallus nigrotenos*. (Orig.)

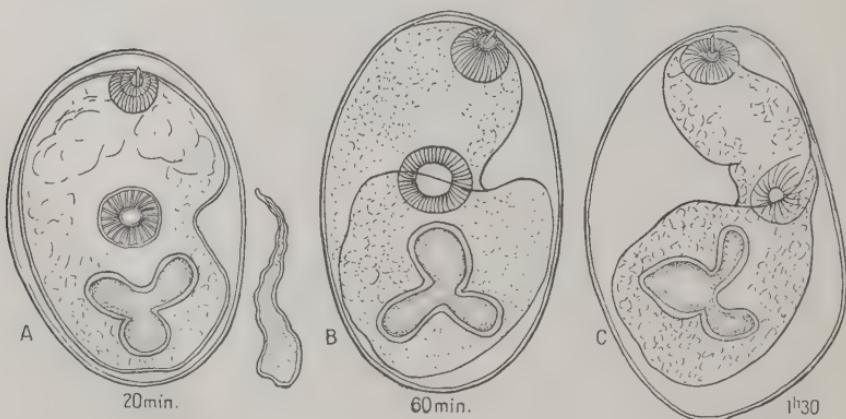


FIG. 34. — Enkystement expérimental sous l'effet du vert de méthyle. Cercaires de *Paralepoderma brumpti* (Buttner, 1950). A : au bout de 20' ; B : au bout de 60' ; C : au bout de 1 h, 30. Noter l'accroissement rapide du kyste. (Orig.).

don de la queue (1). La cercaire, tournant sur elle-même pendant 15 à 20', laisse apparaître subitement une enveloppe très mince, encore souple, sans qu'il soit possible de discerner si celle-ci provient d'une sécrétion glandulaire ou d'un décollement soudain de la cuticule. Au bout de 60', la lame étant préservée de la dessiccation par addition sous la lamelle de quelques gouttes d'eau physiologique, le kyste avait grandi du quart de sa longueur et s'était rassermi et très légèrement épaisse (fig. 34, B). Après 1 h. 30, le kyste avait encore grandi, mais il ne tardait pas à éclater, et le distome inclus à se lyser, le milieu ne possédant plus sans doute des conditions d'isotonie suffisantes à sa subsistance. Après ce court laps de

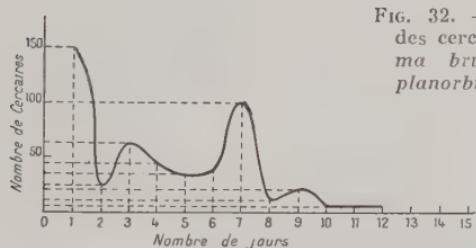


FIG. 32. — Courbe d'émission des cercaires de *Paralepoderma brumpti* du *Planorbis planorbis* 527/A.B.-I.

temps, la métacercaire présentait déjà une taille anormalement grande, dépassant sensiblement celle des plus grandes métacercaires gyrinophiles fréquentes à Richelieu, celles de *Leptophallus nigrovenosus* et d'*Opisthioglyphe ranæ* en particulier (fig. 35, A, B, C et D).

Xénotropisme et pouvoir infectieux : L'étude expérimentale de la xénophilie de cette cercaire nous a permis d'apprécier son pouvoir infectieux :

1) Sur mollusques :

Le 12 août, environ 150 cercaires émises par le planorbe « 527 » sont mises en présence d'exemplaires jeunes et neufs de *Planorbis planorbis*, *Planorbis glabratus*, *Planorbis corneus*, *Bullinus contortus* et *Limnæa peregra*; cette dernière espèce est particulièrement

(1) Nous avons obtenu par ce même procédé l'enkytissement sur lame d'un certain nombre d'espèces de xiphidiocercaires, s'enkystant normalement dans les tissus de leur 2^e hôte intermédiaire (voir fig. 33 pour les xiphidiocercaires de *Leptophallus nigrovenosus*).

sensible aux attaques des cercaires malacotropes. Tous ces mollusques examinés après 48 heures se sont montrés indemnes. Ce caractère constitue une différence importante avec le comportement de la métacercaire progénétique étudiée par R.-Ph. Dollfus, en 1932,

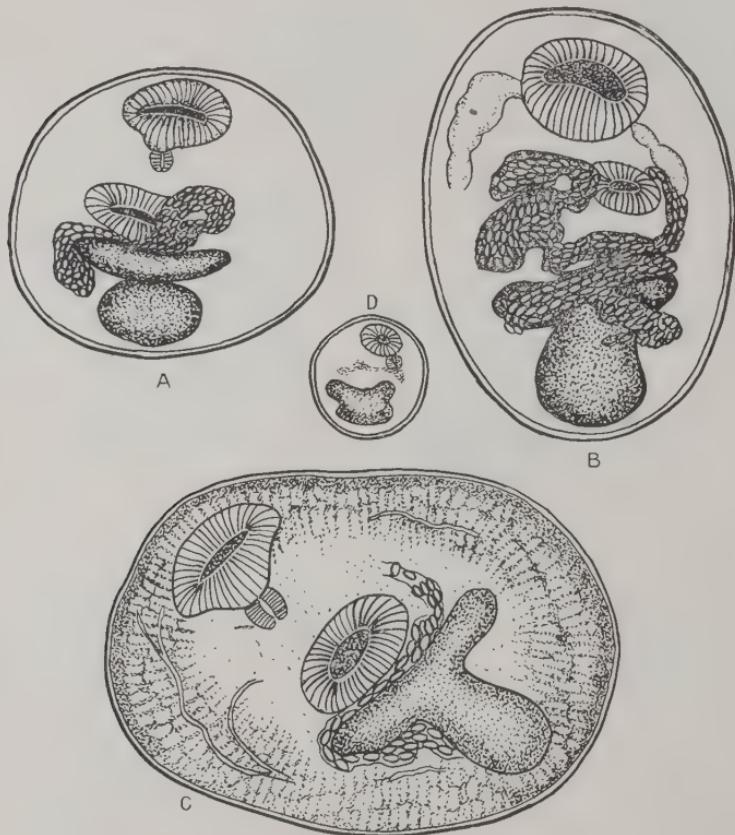


FIG. 35. — A, B, C, métacercaires progénétiques de *Paralepoderma brumpti*, trouvées chez un têtard de *Triton palmatus*; comparaison avec la taille d'une métacercaire d'*Opisthioglyphe ranae* (D) voisine avec elles chez le même animal et mesurant 220 μ . (Orig.).

chez *Planorbis planorbis*, et que ce dernier auteur identifie certainement à tort à la métacercaire de *Paralepoderma brumpti*. Nous avons exposé à nouveau, lorsque nous avons infesté expérimentalement des planorbes neufs qui se sont montrés positifs, des *Planorbis planorbis* à l'action de cette nouvelle génération de cercaires ;

il n'y a jamais eu d'enkyttement (exp. 583'/A.B.-I), tandis que les *Planorbis planorbis* examinés par Dollfus présentaient de nombreux kystes progénétiques.

2) *Sur hirudinées :*

Le 18 août, d'assez nombreuses cercaires (75-100) sont mises en contact avec trois *Helobdella algira*, un *Hemiclepsis tesselata*, provenant de nos élevages neufs de laboratoire ; autopsiées quelques jours plus tard, toutes ces sangsues se montrent négatives.

3) *Sur insectes :*

Des larves de *Chironomus plumosus* sont exposées à environ 60-70 cercaires ; aucune larve ne s'infeste, ce qui était à prévoir, les cercaires gyronotropes ne s'enkytant jamais chez les insectes.

4) *Sur poissons :*

Deux vairons, une loche, une épinoche et une épinochette sont mis en présence d'une dizaine de cercaires provenant, non du planorbe initial « 527 », mais des infestations obtenues par nous expérimentalement ; aucun d'eux ne s'infeste, bien que, dans d'autres cas, nous ayons pu observer leur attirance pour un bon nombre de xiphidiocercaires gyronophiles ou entomophiles.

5) *Sur batraciens :*

a) *Tritons* : Un têtard de *Molge palmata* est exposé aux cercaires du *Planorbis planorbis* « 527 ». L'enkyttement se fait rapidement, en deux heures, et nous avons pu suivre au binoculaire l'enkyttement de plusieurs d'entre elles entre les doigts des pattes postérieures (fig. 36). Un second têtard de triton palmé est mis au contact de ces cercaires ; deux heures plus tard, il présente 15 métacercaires bien formées, portant encore leur stylet et facilement reconnaissable à leur grande taille, leur grosse vessie trilobée et les proportions des ventouses.

Nous avons ensuite comparé les modalités d'enkyttement chez des têtards de triton et chez de jeunes tritons palmés venant de se métamorphoser, récoltés dans un autre gîte (réservoir) (1). Des

(1) Dans son travail sur le cycle évolutif d'*Opisthioglyphe ranæ*, E. BRUMPT (1944-1945, p. 223-224) constate également la répugnance des cercaires de ce trématode à s'enkytster dans la peau de tritons palmés devenus terrestres, et il admet que cette répulsion tient à la transformation des téguments et aux glandes qui se développent après la métamorphose. A propos du rôle chimiotropique exercé sur les cercaires par les téguments attaqués, E. BRUMPT signale en note que LEIGH et van CLEAVE (1945) ont cherché à connaître les raisons qui déterminent les cercaires de *Glyptothelmins quieta* à s'enkytster dans l'épiderme de *Rana pipiens* et à refuser de s'enkytster chez les têtards dépourvus de pattes de cette même espèce. Ces deux auteurs ont observé que dès l'apparition des pattes, et

coupes transversales de ces batraciens, avant et après la métamorphose, nous ont permis de constater la transformation histologique des téguments, dont l'épaisseur et la dureté rendent sans doute la pénétration des cercaires beaucoup plus malaisée.

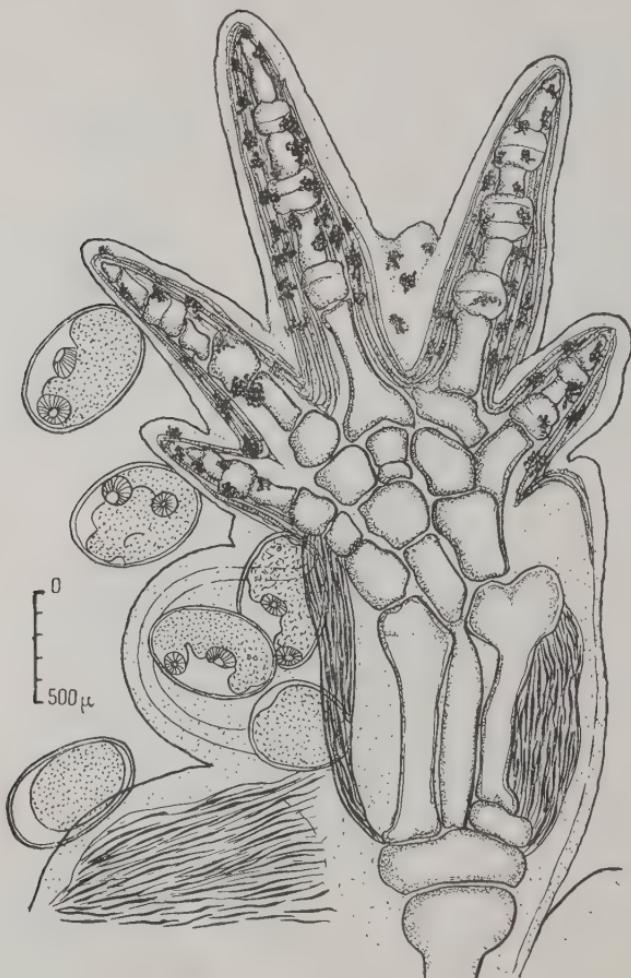


FIG. 36. — Patte postérieure de triton ; à gauche, métacercaires de *Paralepoderma brumpti* enkystées expérimentalement depuis quelques heures. (Orig.).

bien que l'appendice caudal soit encore développé, les cercaires s'enkystent sur les pattes et le corps, jamais sur la queue. En accélérant la métamorphose de jeunes têtards de *Rana catesbeiana* par de l'extrait thyroïdien, ces auteurs ont obtenu l'enkystement chez les têtards ainsi traités.

Douze jeunes tritons témoins, provenant d'un réservoir fréquenté par des couleuvres, des grenouilles et peuplé de nombreuses *Limnæa stagnalis*, furent autopsiés : ils ne portaient que quelques rares métacercaires, aisément reconnaissables, d'*Opisthioglyphe ranæ* et de *Leptophallus nigrovenosus*. Neuf autres jeunes tritons du même gîte furent exposés à d'assez nombreuses cercaires du planorbe « 527 ». Au bout de 24 heures, quatre étaient morts, et il restait encore des cercaires vivantes dans le bocal les contenant, ce qui contraste avec la pénétration presqu'immédiate de ces cercaires chez tous les têtards de batraciens. Ces quatre exemplaires autopsiés ne présentaient aucune métacercaire imputable au planorbe « 527 ». Les cinq tritons demeurés vivants ont été sacrifiés et autopsiés après 48 heures : le premier était négatif ; le deuxième avait deux métacercaires de « 527 » ; le troisième et le quatrième hachés ensemble montrèrent dix métacercaires de « 527 », tandis que le cinquième n'en présentait qu'une seule.

b) Têtards d'*Alytes obstetricans* : Un certain nombre de ces animaux, indemnes de toute infestation parasitaire, parce que provenant d'un bassin dépourvu de mollusques, sont successivement exposés aux attaques des cercaires « 527 » : ces cercaires sont comptées dans une éprouvette mince de 10 cc., ainsi qu'il a été indiqué dans la technique ; pour suivre le comportement des cercaires, on les déverse dans une éprouvette de même volume, mais d'un diamètre moins étroit, et le têtard y est engagé, la queue dirigée vers le bas, afin que les cercaires, que leur géotropisme positif attire vers le fond, ne soient pas ingérées par l'animal. On suit facilement à la loupe leur pénétration à travers les téguments. Elles se fixent immédiatement dans la queue, puis en un point quelconque du corps et, de là, migrent en profondeur dans les muscles et la cavité générale. L'enkyystement est toujours de 100 p. 100.

Cinq têtards indemnes de toute infestation ont été mis en contact avec des cercaires du planorbe « 527 », le premier avec 20-30, le second avec 70, le troisième avec 45, le quatrième avec 35, le cinquième avec une dizaine de cercaires provenant des dernières émissions du planorbe « 527 ».

Une première autopsie est pratiquée sur l'un de ces têtards, trois jours après son infestation (27 août) : les métacercaires sont localisées dans la tête, le corps, la queue et les pattes. La métacercaire de trois jours (fig. 37) a perdu son stylet ; elle mesure dans son kyste 500 μ de long sur 350 μ de large ; le diamètre de la ventouse orale est de 110 μ ; celui de l'acetabulum de 95-100 μ . La structure interne se distingue mal en raison de l'opacité des cellules parenchymateuses. Sortie de son kyste, la métacercaire laisse apparaître

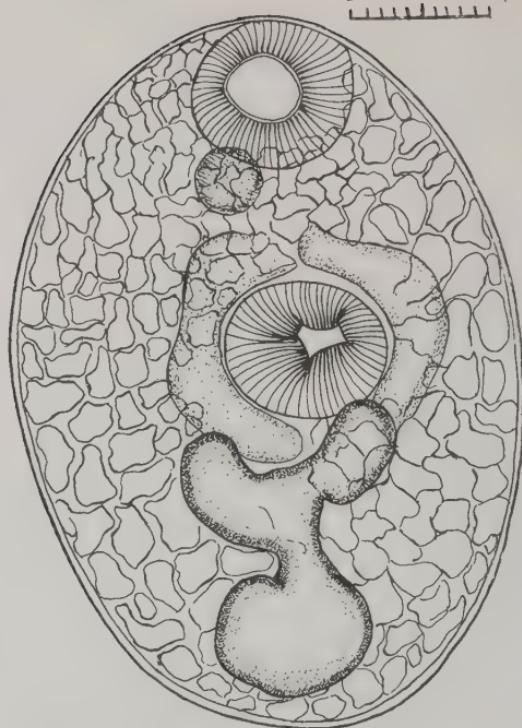


FIG. 37. — *Paralepoderma brumpti* : métacercaire de 3 jours obtenue expérimentalement chez le têtard d'*Alytes obstetricans*. (Orig.).



FIG. 38. — *Plagiorchis brumpti* A. Buttner, 1950. A, âgée de 15 jours, face ventrale ; B, âgée de 30 jours ; C, forme naine ; D, œufs. (Orig.)

un court prépharynx, un pharynx musculeux, un œsophage se terminant au tiers antérieur du corps ; les deux cœcum se terminent à la naissance des deux lobes supérieurs de la vessie en Y. Les testicules sont symétriques sur un plan horizontal passant au-dessus de la vésicule excrétrice. L'ovaire, vu par la face ventrale, est à gauche et légèrement au-dessus de l'acetabulum. La poche du cirre, les glandes vitellogènes n'apparaissent que sur des métacercaires plus âgées.

Une seconde autopsie est opérée le 28 août sur un têtard infesté depuis 15 jours ; le moignon caudal présente deux grandes métacercaires ayant déjà des œufs (100 à 200) dans l'utérus, ainsi que de nombreux kystes encore immatures ; dans les pattes : une vingtaine de métacercaires de plus ou moins grandes dimensions, dont quelques-unes ont déjà des œufs ; dans la cavité générale : quatre métacercaires encore immatures ; dans les viscères : une métacercaire de grande taille, parfaitement développée, présentant des œufs et des glandes génitales bien visibles (fig. 38, A). Les œufs sont déjà embryonnés. La paroi abdominale porte quatre métacercaires avec plus ou moins d'œufs.

Un troisième têtard fut autopsié le 31 août ; il avait été infesté le 13 et surinfesté le 19 et présentait donc des métacercaires de 12 et de 18 jours. Le moignon caudal montrait deux métacercaires progénétiques avec quelques œufs, et environ 25 jeunes, enkystées ; dans les viscères, 5 métacercaires enkystées portaient déjà de nombreux œufs ; dans la tête, 3 métacercaires immatures et 2 dans les pattes portent le total des distomes retrouvés à 37, alors que le nombre de cercaires auxquelles le têtard avait été exposé était évalué à 35-40, soit un pourcentage d'enkystement de 100.

Les deux derniers têtards ont été sacrifiés au bout de 20 à 30 jours : toutes les métacercaires étaient progénétiques, mais de tailles différentes, certaines d'entre elles restant naines (fig. 40), bien que progénétiques ; leurs œufs, quand ils sont mûrs, ont une taille normale, mais d'autres sont atrophiés et ne possèdent qu'une coque chitineuse. L'existence de ces organismes, interrompus dans leur croissance, mais sexuellement mûrs, se justifie mal, car leur évolution s'est poursuivie dans des conditions identiques à celle des métacercaires les plus évoluées.

La morphologie de la métacercaire de 30 jours est identique à celle de 15 jours. Toutefois, les testicules en sont dégénérés et le nombre des œufs dans l'utérus est encore accru (plus d'un millier), mais ils ne sont jamais évacués dans le kyste (fig. 38, B, et 39).

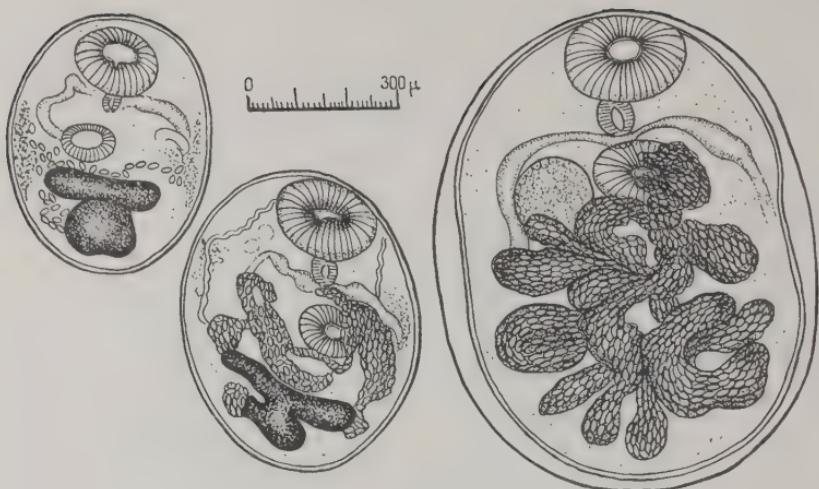


FIG. 39. — *Paralepoderma brumpti* : métacercaires progénétiques expérimentales de 30 jours. (Orig.)

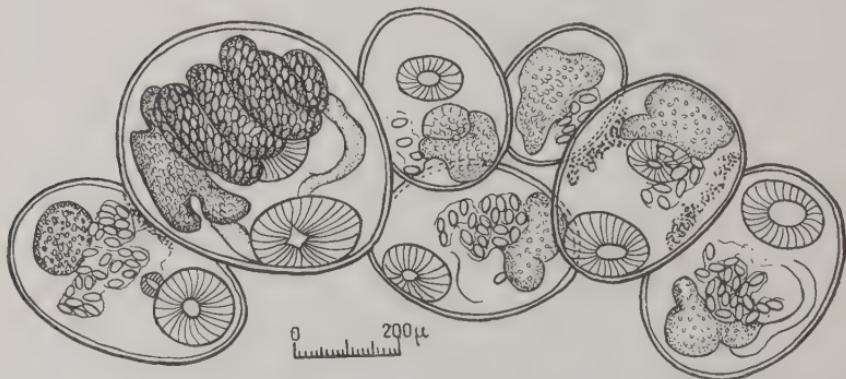


FIG. 40. — *Paralepoderma brumpti* : métacercaires progénétiques obtenues expérimentalement chez le têtard d'*Alytes obstetricans* et restées naines après 36 jours. (Orig.)

Description de la métacercaire progénétique de *P. brumpti*.
Discussion

Voici la diagnose de la métacercaire de 15 jours (fig. 38, A) :

Taille de la métacercaire sortie du kyste : 1.500 μ -1.700 μ de long
sur 900 μ -1.000 μ de large.
Cuticule très finement spinulée.

Deux ventouses sub-égales (225 μ -250 μ de diamètre).
 Pharynx : 50 μ \times 50 μ .
 Œsophage plus ou moins contracté (moyenne : 150 μ de long).
 Deux cœcums minces se terminent au niveau des deux cornes supérieures de la vessie.
 Ovaire volumineux (225 μ dans son plus grand diamètre sur 175 μ).
 Poche du cirre juste au-dessus de l'acetabulum.
 Testicules symétriques sur un plan horizontal entre la vessie et l'acetabulum (1).
 Utérus rempli d'œufs formant de nombreuses circonvolutions.
 Vessie dessinant un Y très allongé.
 Follicules vitellins s'étendant sur 800 μ -900 μ dans la partie moyenne de l'animal.
 Œufs : 40 μ de long sur 20-23 μ de large, possèdent un opercule et un petit mucron au pôle inférieur ; présence d'un miracidium vivant à l'intérieur de la coque (fig. 38, D).

Nous avons examiné ce que devenaient ces métacercaires chez leur hôte au bout de plusieurs mois.

Nous avons ainsi retrouvé, chez un têtard d'*Alytes obstetricans*, sacrifié 10 mois après son infestation par 20-30 cercaires de *Paralepoderma brumpti* (exp. 588/A.B.-I), 22 métacercaires parfaitement vivantes, à des stades plus ou moins avancés d'évolution :

— 6 d'entre elles étaient restées naines et ne portaient que 6 à 20 œufs ; elles se trouvaient dans l'appendice caudal et le tissu conjonctif abdominal ;

— 6 autres, observées dans l'abdomen, étaient demeurées au stade de la métacercaire de 15 jours quant au nombre des œufs produits, mais elles présentaient une dégénérescence partielle des testicules et de l'ovaire, ainsi qu'une disparition complète des glandes vitellines.

Néanmoins, de très nombreux spermatozoïdes se distinguaient dans la poche du cirre et dans les deux canaux déférents qui se réunissaient à une faible distance de la poche du cirre en un canal commun.

Dans l'une de ces métacercaires, mentionnons, à la base du tronc médián de la vésicule excrétrice, 5 gros calculs vésicaux ;

— 10 métacercaires, enkystées dans les muscles de la tête et du thorax, étaient semblables à la métacercaire de 30 jours, mais avec une dégénérescence totale des glandes génitales (y compris l'ovaire) et des follicules vitellins. Quelques cellules isolées, chromophiles, au niveau de ces glandes, étaient sans doute les derniers vestiges de leur existence.

(1) Les deux caractères (testicules symétriques, vessie en Y se bifurquant en arrière des testicules), constants chez certains *Plagiorchidiæ*, ont incité R.-Ph. DOLLFUS à créer pour eux le genre *Paralepoderma* que nous avons adopté pour le distome étudié ici.

Signalons, dans les métacercaires les plus évoluées, que certaines anses utérines étaient remplies de granulations de substance coquillère, parmi lesquelles quelques très rares œufs normaux se voyaient encore.

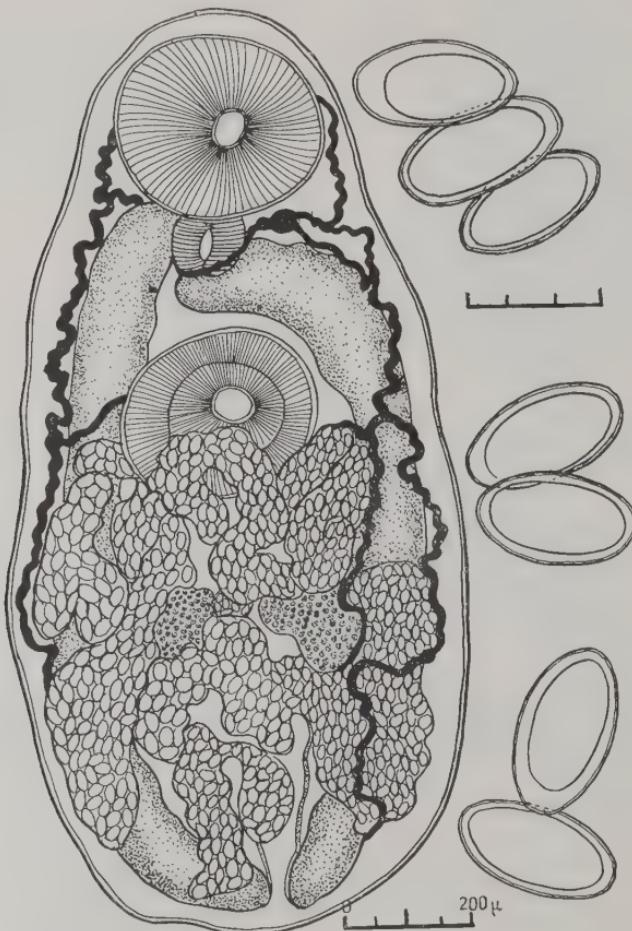


FIG. 41. — *Paralepoderma cloacicola*. Exemplaire vivant trouvé dans le cloaque de *Tropidonotus natrix*. (Orig.)
Chaque division de l'échelle des œufs = 10 μ .

Dans un travail récent sur les variations anatomiques de *Distoma cloacicola* Max Lühe 1909, parasite du cloaque de la couleuvre à collier, R.-Ph. Dollfus (1950) a jugé identiques ce distome et la métacercaire progénétique que nous avons observée chez les têtards de batraciens. Nous ne partageons pas cette opinion. Nous avons eu

l'occasion d'examiner des exemplaires vivants de l'une et l'autre espèces. *Paralepoderma cloacicola* a normalement des cæcums digestifs très longs, qui atteignent la base de la vessie excrétrice; d'autre part, ces cæcums sont beaucoup plus gros que ceux de *P. brumpti*. La ventouse orale est plus grande (moyenne de $310\text{ }\mu$ au lieu de $240\text{ }\mu$); le système excréteur, rempli de guanine, est bien marqué — nous l'avons observé sur 11 exemplaires de *P. cloacicola* avec autant de netteté que sur la figure 41 — alors qu'il est à peine décelable chez *P. brumpti*; la vessie excrétrice est difficilement visible chez *P. cloacicola*, alors que chez *P. brumpti*, nous l'avons vue chez près d'une centaine d'exemplaires progénétiques, dessinant extrêmement nettement un Y très allongé. L'ovaire est beaucoup moins volumineux chez *P. cloacicola* et il est habituellement placé au-dessous de l'acetabulum; chez *P. brumpti*, il dépasse, en général, légèrement l'acetabulum et son volume est presque double de celui du distome de la couleuvre (voir les deux figures comparatives 41 et 42).

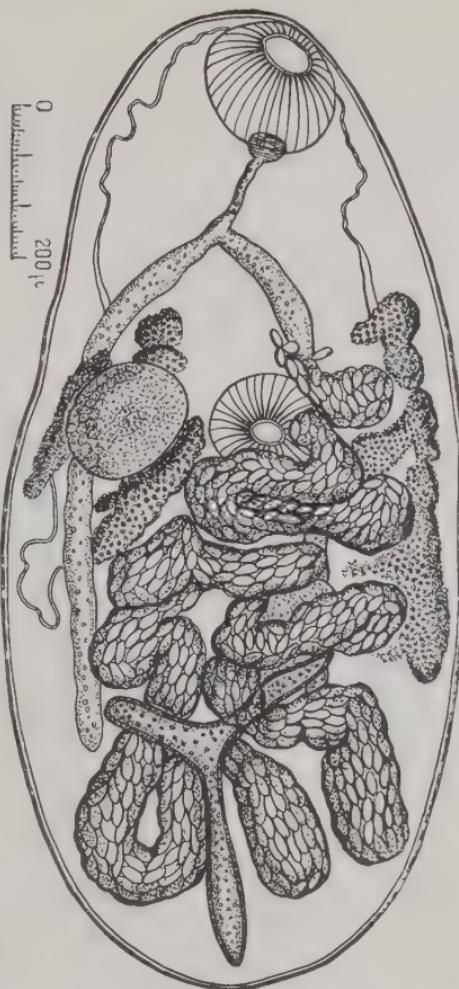


FIG. 42. — *Paralepoderma brumpti* (A. Buttner, 1950), exemplaire vivant d'une métacercaire progénétique trouvée chez un têtard d'*Alytes obstetricans* Laur. (Orig.). Au lieu de $200\text{ }\mu$, lire $300\text{ }\mu$.

Essai d'évolution chez un hôte définitif possible (*Colubridæ*)

Enfin, l'activité génitale de *P. brumpti* en fait l'homologue d'un adulte. Nous avons essayé, à différentes reprises, de faire évoluer chez des couleuvres des métacercaires de *P. brumpti*, afin de vérifier l'hypothèse, émise par Dollfus, sur l'identité de cette espèce avec *P. cloacicola* : une cinquantaine de métacercaires de *P. brumpti*, de tous âges, provenant de deux têtards infestés expérimentalement, ont été administrées successivement à deux couleuvres, *Tropidonotus viperinus* et *Tropidonotus natrix*.

La première, *Tropidonotus viperinus* (561/A.B.-I), ingère, le 3 septembre, une trentaine de métacercaires à tous les stades, progénétiques ou non, d'un têtard infesté 15 jours plus tôt avec des cercaires, et réinfesté à différentes reprises. Cette couleuvre est sacrifiée quatre jours plus tard ; autopsiée, elle ne présente aucun distome dans le cloaque ; l'intestin postérieur, à 4 cm. du cloaque, renferme trois vers, en tous points semblables aux grandes métacercaires progénétiques ingérées, mais libérées de leur kyste (fig. 43, A, B). Le reste de la moitié inférieure de l'intestin ne renfermait aucun trématode, à l'exception d'un kyste ovoïde, de grande taille, dégénéré (fig. 43, C). La moitié antérieure intestinale était également dépourvue de distomes, sauf un second kyste ovoïde en dégénérescence. Aucun autre trématode n'a été décelé dans les différents organes. Cette absence de parasitisme est peut-être due au jeûne prolongé (trois mois) auquel l'animal avait été soumis, ou encore à sa faible réceptivité individuelle.

La deuxième couleuvre, *Tropidonotus natrix* (579/A.B.), ingère, le 20 septembre, quatre métacercaires progénétiques mûres portant des milliers d'œufs dans l'utérus et une vingtaine de jeunes kystes, plus ou moins immatures, de la même espèce, mais renfermant des œufs. Sacrifiée six jours plus tard, cette couleuvre présente dans le cloaque les quatre grandes métacercaires, libres et nullement modifiées ; les cœcum digestifs étaient toujours grèles et, en aucun cas, le système excréteur ne renfermait de guanine, comme nous l'avions observé chez les onze exemplaires vivants de *Lepoderma cloacicola*, recueillis par nous dans le cloaque d'une couleuvre à collier, en Indre-et-Loire. Il semble donc bien que le séjour dans le milieu intestinal de la couleuvre ne modifie pas le métabolisme des distomes progénétiques de *Paralepoderma brumpti*. Aucune trace des autres métacercaires n'est relevée dans tout le tube digestif, ni dans aucun autre organe. Dans le poumon, seul un grand exemplaire de *Macrodera longicollis* est trouvé.

Que faut-il conclure de ces infestations ? La couleuvre ne paraît pas être un hôte définitif favorable. Les métacercaires jeunes n'y achèvent pas leur maturation ; les métacercaires mûres n'y poursuivent pas leur évolution.

Notons que des *Plagiorchiidae* adultes ont été trouvés chez les animaux suivants : poissons, batraciens, reptiles, oiseaux et mammi-



FIG. 43. — Cycle évolutif de *Paralepoderma brumpti* : essai d'évolution chez *Natrix viperinus* et *Natrix natrix*. A, B, exemplaires trouvés dans l'intestin postérieur six jours après ingestion ; C, deux jeunes métacercaires en dégénérescence dans l'intestin moyen et antérieur. (Orig.).

fères. Cependant, la morphologie de ces distomes ne ressemble en rien à l'espèce que nous avons étudiée. C'est pourquoi, nous n'avons retenu comme hôte définitif éventuel que celui hébergeant *P. cloacicola*, trématode dont la disposition anatomique présentait quelques analogies avec l'espèce que nous avons trouvée.

Paralepoderma brumpti ne paraît pas davantage assimilable à la métacercaire progénétique de *Planorbis planorbis*, décrite par Dollfus en 1932 et observée par P. Paris le 18 avril 1932. En effet, les centaines de *Planorbis planorbis* que nous avons examinés à Richelieu, au cours de ces dernières années, n'ont jamais présenté de

telles métacercaires dans leur corps. D'autre part, les 150 exemplaires, parmi lesquels nous avons trouvé le seul mollusque parasité par la cercaire de *P. brumpti*, étaient tous exempts de métacercaires, progénétiques ou non. Or, la réunion de ces 150 planorbes dans un même bocal aurait dû les exposer particulièrement à ce parasitisme, et il est certain que, s'il y avait identité de distomes entre celui décrit par Dollfus et le nôtre, quelques *Planorbis planorbis* au moins auraient eu des métacercaires. Signalons encore que les planorbes que nous avons infestés expérimentalement et qui ont émis des cercaires de *Paralepoderma brumpti* étaient, à la dissection, indemnes de toutes métacercaires. Enfin, une dernière preuve biologique de cette non-identité spécifique nous paraît être dans le fait que des *Planorbis planorbis*, récoltés en mai 1950, aux environs de Saint-Jean-de-Losne (Côte d'Or), gîte originel des mollusques infestés par la métacercaire progénétique décrite par R.-Ph. Dollfus, avaient des métacercaires libres, encore immatures, et présentant de grandes analogies avec le distome progénétique étudié par Dollfus.

Les *Planorbis planorbis* qui nous ont été envoyés de Saint-Jean-de-Losne (1) ont été isolés au cours du mois de juin, afin d'étudier leur infestation éventuelle. Ils n'ont pas émis de cercaires que nous ayons pu observer. Après autopsie (juillet), deux d'entre eux sur 35 examinés ont présenté un hépatopancréas bourré de sporocystes allongés, transparents, contenant des germes multiples à différents degrés d'évolution. De nombreuses cercaires armées, très mobiles dans le sporocyste ou sorties par effraction, semblaient proches de la maturité ; mais les deux planorbes parasités par elles ne montrèrent dans leur corps aucun kyste, progénétique ou non.

Première démonstration expérimentale d'un cycle abrégé

La métacercaire progénétique de *Paralepoderma brumpti*, produisant très rapidement des milliers d'œufs et n'acquérant chez un hôte vertébré expérimental, tel que la couleuvre, aucune différenciation supplémentaire, paraissait présenter les conditions les plus favorables pour la réalisation d'un cycle abrégé, sans participation d'un hôte définitif.

Le 20 août, nous avons isolé deux métacercaires progénétiques provenant d'un têtard d'*Alytes obstetricans* spontanément infesté.

(1) C'est grâce au Professeur DENIS, Directeur de la Station expérimentale de Grimaldi, et à son élève M. BIRSCH, que nous avons pu étudier ces mollusques et nous les en remercions très vivement.

Ces métacercaires avaient leur utérus bourré d'œufs embryonnés (ce qui est normal chez un *Plagiorchiidæ* adulte) (1). Pour libérer les œufs, l'animal ne présentant pas d'orifice de ponte et étant enveloppé dans un kyste fragile, nous avons légèrement écrasé les deux métacercaires entre lame et lamelle, dans l'eau physiologique. Examinant ensuite au microscope cette préparation, nous avons pu vérifier que les œufs étaient bien sortis de l'utérus et disséminés sous la lamelle, mais néanmoins entiers et non lésés : l'opercule était bien visible ; à l'intérieur de la coque du plus grand nombre d'entre eux, un miracidium vivant, sans yeux, avec un petit rostre strié en avant, était parfaitement perceptible ; on le voyait se mouvoir légèrement, d'avant en arrière.

Quinze jeunes *Planorbis planorbis*, indemnes d'infestation vermineuse, sont mis aussitôt en contact avec ces œufs, dans 20 cc. d'eau, à 25° (expérience 540/A.B.-I) ; 24 heures plus tard, un prélèvement sur les déjections est examiné entre lame et lamelle, afin de contrôler si les œufs ingérés et évacués avec les déjections ont éclos dans l'intestin. Nous avons pu observer d'innombrables œufs présents dans les déjections ; cinq-six œufs seulement sont désoperculés, témoignage de leur éclosion dans le tube digestif ; plusieurs sont en division ; un grand nombre est encore intact et possède toujours un miracidium mobile. Quelques œufs sont éclatés, la coque est vide, mais on ne peut savoir si l'œuf était immature ou si le miracidium qu'il contenait était présent dans l'intestin du mollusque.

Le 21 août, douze autres jeunes *Planorbis planorbis* neufs sont placés dans un cristallisoir de 10-15 cm. de diamètre, avec les œufs de quatre métacercaires progénétiques spontanées, à des stades différents, incluses dans les tissus d'un têtard d'*Alytes obstetricans* (expérience 540'/A.B.-I). Les fragments de tissus ont été broyés dans un mortier avec du noir animal, afin de mettre les œufs en liberté. Le produit de hachage, agité dans l'eau physiologique, est rejeté avec cette eau dans le cristallisoir où les mollusques sont maintenus dans une faible épaisseur d'eau (1-2 cm.), pendant 24 heures.

(1) On sait que les œufs des familles de trématodes suivantes : *Dicrocoelidæ*, *Plagiorchiidæ*, *Opisthorchiidæ*, *Heterophyidæ*, *Azygiidæ* sont toujours embryonnés à la ponte et dans les dernières anses de l'utérus. Pour pouvoir poursuivre leur évolution, ces œufs doivent être absorbés par le mollusque, premier hôte intermédiaire ; ils éclosent dans l'intestin ; le miracidium actif traverse l'intestin et se fixe en un point d'élection, généralement déjà sur le tube digestif, pour se transformer en sporocyste primitif. Il colonise ensuite l'intestin, le long duquel on trouve souvent les sporocystes, et gagne de là l'hépatopancréas. La coque vide de l'œuf est rejetée avec les selles. Il y a donc ingestion passive et non attraction miracidienne, comme dans la plupart des autres groupes.

L'examen des déjections, le lendemain (22 août), donne les mêmes résultats que pour le premier lot : très nombreux œufs ingérés, rares œufs éclos (1 p. 100 environ).

Les deux lots sont réunis avec les sédiments de tissus hachés et les déjections contenant encore de nombreux œufs mûrs, mais non éclos lors de la première ingestion.

Une nouvelle tentative d'infestation de mollusques est effectuée le 29 août (expérience 558/A.B.-I) ; 20 *Planorbis planorbis*, mis en observation depuis plusieurs mois, n'ayant jamais émis de cercaires, ni infesté de têtards-pièges (1), sont mis en présence de milliers d'œufs renfermant des miracidiums très actifs ; ces œufs provenaient de quatre métacercaires progénétiques prélevées sur des têtards d'*Alytes* infestés spontanément ; 12 *Planorbis glabratus* et 12 *Bullinus contortus* sont joints à ce lot pour étudier la plus ou moins grande spécificité du premier hôte intermédiaire.

L'examen des déjections, 24 heures plus tard, fait ressortir le même pourcentage d'éclosion que dans les expériences précédentes.

Un troisième essai d'infestation est pratiqué le 19 septembre, à partir d'un têtard d'*Alytes* infesté expérimentalement 30-35 jours plus tôt (expérience 578/A.B.-I). L'autopsie de cet animal révéla la présence de très nombreuses métacercaires mûres de grande et de petite taille. Elles étaient toutes progénétiques. Le moignon de la queue portait 10 grandes métacercaires et 5-6 petites ; dans la cavité générale, 12 grands kystes progénétiques sphériques étaient présents. Dans la tête, 36 grandes métacercaires et 2 petites, toujours avec de nombreux œufs. Enfin, le tronc contenait 20 kystes progénétiques, dont 6 nains, soit un total de 72 grandes métacercaires et 14 petites, représentant certainement du 100 p. 100 d'enkyystement.

Cinquante-cinq *Planorbis planorbis*, de tous âges, indemnes d'infestation (expérience 578), sont placés dans un cristallisoir de 10-15 cm. de diamètre et une faible hauteur d'eau (1-2 cm.), avec le broyat de tissus parasités du têtard, pilés dans un mortier, afin de libérer plus sûrement les œufs des kystes fortement protégés par les tissus ; 64 grandes métacercaires et quelques petites, isolées et écrasées comme précédemment entre lame et lamelle, sont agitées dans l'eau pour y disséminer les œufs.

L'examen des déjections, 24 heures plus tard, a fait ressortir, outre la quantité considérable d'œufs ingérés, un pourcentage d'éclosion de

(1) Les têtards pièges sont des têtards neufs placés avec les mollusques suspects dont les cercaires ont une grande affinité pour les batraciens. Dans ces conditions, même si les cercaires sont rares et passent inaperçues, elles s'enkyystement certainement chez le têtard piége et pourront être ainsi décelées.

10 à 15 p. 100. Les œufs désoperculés provenaient certainement de l'éclosion et non d'un écrasement produit lors de la compression entre lame et lamelle, car aucun éclatement des œufs n'a été ainsi obtenu mécaniquement ; d'autre part, ces œufs sans opercule se trouvaient normalement dans les boudins de déjections évacués par le mollusque.

Les déjections replacées dans le cristallisoir avec les mollusques contenaient encore de très nombreux œufs mûrs, non éclos. Ils ont été certainement en grande partie réingérés et un certain nombre d'entre eux ont dû éclore dans l'intestin, élevant à nouveau le pourcentage d'infestation.

Ce n'est qu'au bout de 60 jours (21 octobre 1949) que nous avons vu apparaître, dans notre premier lot, les premières cercaires de *Paralepoderma brumpti*. Nous les avons aisément reconnues à leur géotropisme fortement positif et leur façon particulière de s'élever de temps en temps dans le bocal, puis de se laisser retomber passionnément, enroulées sur elles-mêmes. Les mollusques ont été aussitôt isolés ; en l'espace de huit jours, sur les 20 survivants de cette première infestation, 8 *Planorbis planorbis* émettaient des cercaires, soit un pourcentage de 40 p. 100.

Le nombre des cercaires émises a suivi des variations sensiblement semblables à celles des émissions de notre planorbe originel « 527 ». La longévité des planorbes parasités est faible : trois semaines au maximum. Pour ne pas risquer de perdre la souche, nous avons aussitôt infesté un têtard d'*Alytes obstetricans* (Laurenti) que nous possédions encore, puis trois jeunes têtards d'*Ambystoma mexicanum* (Shaw) et un animal néoténique de grande taille de cette même espèce, tous quatre de la variété blanche, deux jeunes *Xenopus laevis* (Daudin) (1), enfin un jeune *Triton palmatus* (Schneid.).

Tous ces animaux ont bien supporté l'infestation, et nous avons pu constater, comme précédemment, en plaçant ces animaux la tête en haut dans une éprouvette de 10 cc., la pénétration de toutes les cercaires, que leur géotropisme positif maintenait au fond, le plus souvent par l'appendice caudal.

Les têtards d'Axolotl, entièrement transparents, permettent de suivre la migration des cercaires de la queue vers la cavité générale et toutes les parties du corps.

Un mois plus tard, tous ces batraciens présentaient des métacercaires progénétiques, à partir desquelles nous avons réinfesté des

(1) *Ambystoma* et *Xenopus* proviennent des élevages entretenus à Lagny par M. Parisy, qui a bien voulu nous en céder quelques spécimens pour nos expériences.

Planorbis planorbis (L.), en vue de préparer une deuxième génération de cercaires (exp. 648/A.B.-I).

Les deux autres lots parasités (n° 558 et 578) avaient été soumis à une infestation trop intense ; la plupart des mollusques sont morts prématurément avec l'hépatopancréas bourré de sporocystes contenant des cercaires encore immatures, mais néanmoins déjà reconnaissables. Des coupes ont été pratiquées, qui nous ont permis d'observer les altérations histologiques des tubes glandulaires de l'hépatopancréas et leur destruction au contact des sporocystes. Signalons toutefois que tous les mollusques autres que *Planorbis planorbis* (L.) ne se sont pas infestés. Une expérience récente, effectuée avec *Planorbis carinatus* (n° 647/A.B.-I), nous a donné également un résultat négatif.

L'hépatopancréas d'un des planorbes « 558 » a été fixé et coloré *in toto* au carmin chlorhydrique ; il montre bien l'envahissement total de la glande hépatique par les sporocystes et sa destruction entraînant finalement la mort du mollusque.

La deuxième génération de cercaires, obtenues expérimentalement à partir du lot de *Planorbis planorbis* 648/A.B.-I, est apparue le 11 juillet. Elle a permis d'infester quatre jeunes tétrards de *Rana temporaria* (684/A.B.-I), provenant de pontes récoltées dans les ruisseaux du Bois de Boulogne, et conservées à l'abri des mollusques dans une cuve du laboratoire.

Trois de ces tétrards sont morts accidentellement, 4, 5 et 6 jours après leur infestation. Ils présentaient chacun 6 à 10 métacercaires de grande taille, mais encore immatures.

Le quatrième (d'un poids de 0,35 gr.), sacrifié 50 jours après son infestation, alors qu'il possédait déjà ses quatre pattes et que l'appendice caudal régressé n'était plus qu'un moignon, montra à l'autopsie :

11 métacercaires progénétiques, dont une seule grande et 10 naines, dans le corps et la queue, et 14 métacercaires progénétiques, dont 8 grandes et 6 petites, dans la tête. Les grands kystes possédaient de 500 à 1.000 œufs dans l'utérus, mais aucun dans le kyste, et d'assez nombreuses granulations de substance coquillière étaient disséminées parmi les œufs.

Un nouveau lot de 80 *Planorbis planorbis* jeunes, provenant de nos élevages, fut infesté à partir de ces œufs, préparant une troisième génération de cercaires (695/A.B.-I). Ces infestations successives semblent donc bien prouver que l'espèce *Paralepoderma brumpti* est parfaitement adaptée à un processus abrégé d'évolution.

Nous donnons ci-dessous (p. 100) un tableau généalogique des différents passages effectués à partir du planorbe originel « 527 »,

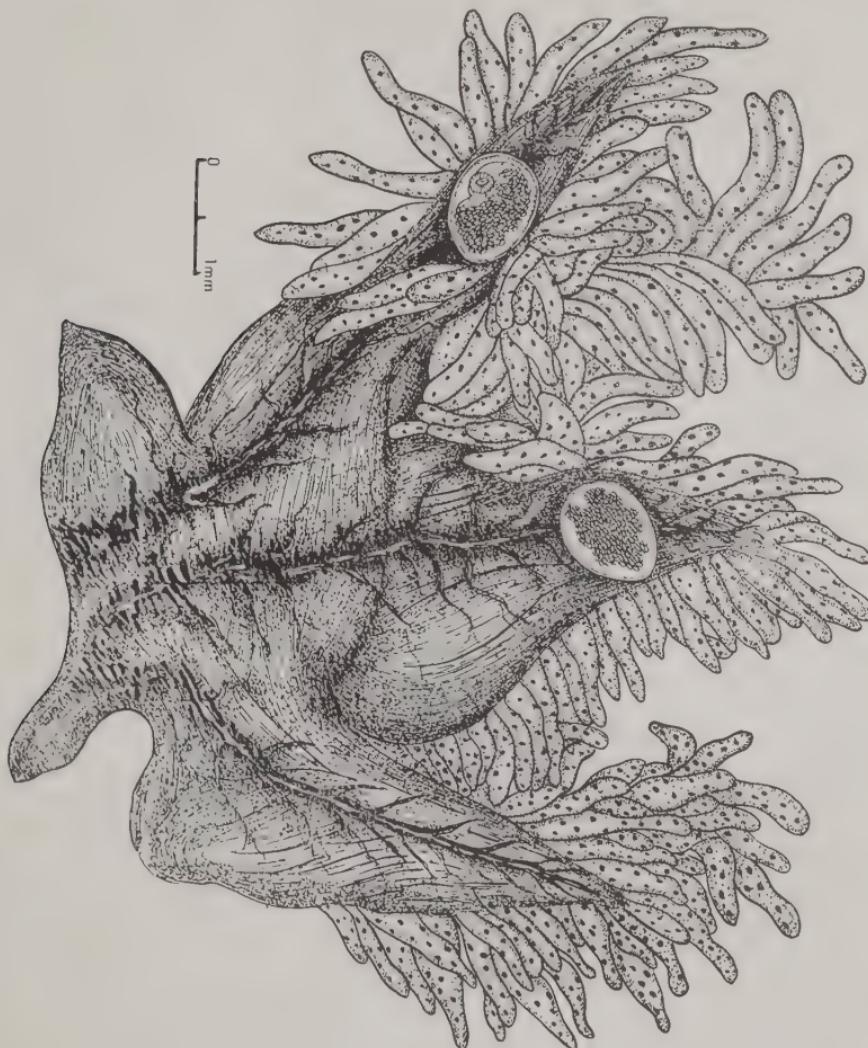


FIG. 44. — *Paralepoderma brumpti*; métacercaires progénétiques fixées sur des branchies de têtard d'*Amblystomma mexicanum*. Localisation superficielle, tombent à la maturité. (Orig.).

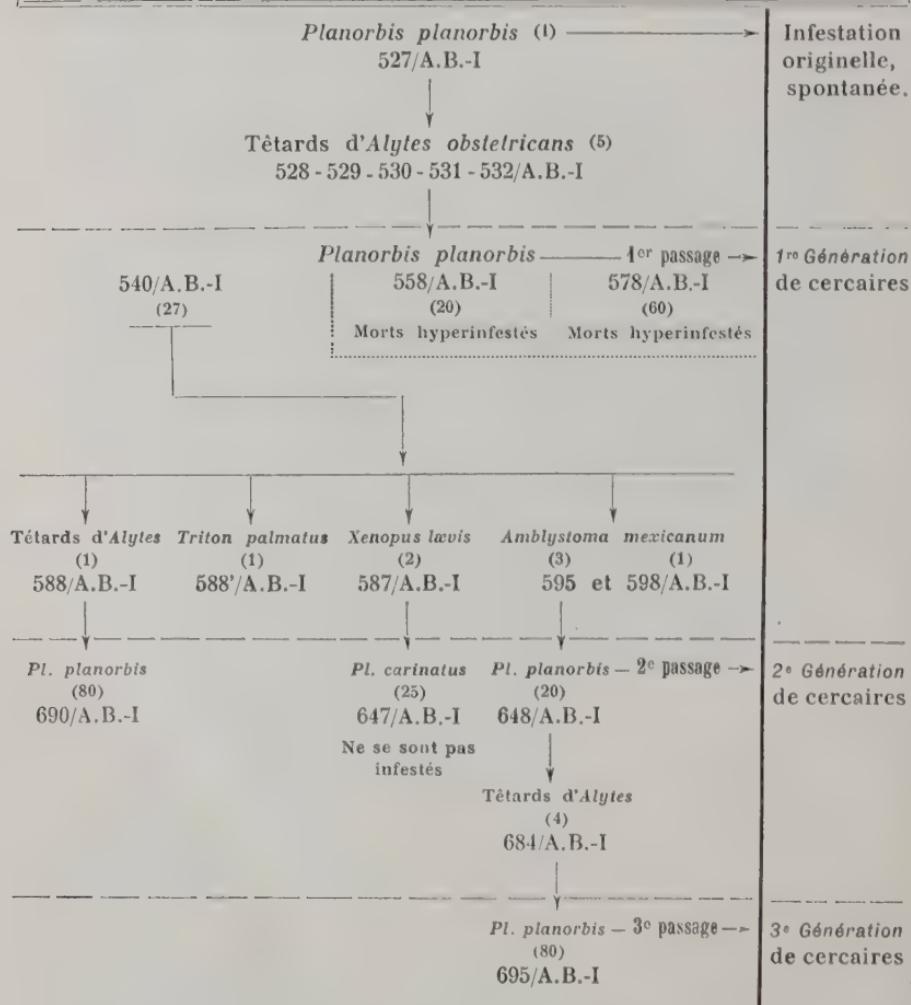
spontanément infesté, pour aboutir à la troisième génération de cercaires obtenues expérimentalement par des cycles à deux hôtes.

Comment les mollusques s'infestent-ils dans la nature ? Il semble rare que les kystes tombent spontanément, comme chez les dis-

Paralepoderma brumpti (A. BUTTNER, 1950)

Origine de la souche :
Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire)

Évolution abrégée (1)



(1) Les chiffres tels que (1), (5), etc., indiquent le nombre d'animaux étudiés.

coglosses infestés par *Ratzia joyeuxi* (E. Brumpt 1922) ; cependant, nous avons obtenu, chez un têtard d'Axolotl, l'enkytisme de deux métacercaires sur les branchies (fig. 44). Ces métacercaires n'y étaient fixées que très superficiellement, et les branchies à peine sectionnées, les kystes n'ont pas tardé à se détacher et à rouler sur la lame où nous venions de les dessiner en place sur les diverticules branchiaux.

Il se peut que la mort des têtards mette en liberté, lors de la décomposition des tissus, les œufs qui sont alors ingérés par les mollusques. Ceux-ci consomment, en effet, volontiers des fragments de têtards hachés ; nous avons pu nous en apercevoir, lors de nos infestations expérimentales, avec des tissus de têtards infestés, plus ou moins dilacérés et broyés. Il se peut aussi que le têtard soit mangé par un animal prédateur vertébré, et que les kystes digérés laissent en liberté les œufs qui traversent passivement le tube digestif et sont ainsi évacués dans l'eau sans être altérés. Cette difficulté pour libérer les œufs pourrait expliquer l'extrême rareté de cette infestation dans la nature. Nous sommes retourné au printemps 1950 au gîte originel de ces planorbes ; sur 250 planorbes examinés, aucun jusqu'à ce jour n'a présenté cette infestation.

Comment est-elle née dans la cuve où nous l'avons découverte ? C'est ce qu'il nous paraît impossible d'élucider. Peut-être le mollusque était-il déjà infesté lors de sa récolte dans les canaux de drainage. Ces canaux hébergent une faune assez variée et ils peuvent être fréquentés au printemps par des batraciens, des reptiles, des oiseaux sauvages et de petits mammifères susceptibles de jouer ce rôle de libérateur passif des œufs au cours du passage des kystes dans leur tube digestif.

Etude de la reproduction : autofécondation

En dépit de leur abondance dans l'utérus, il n'y a jamais d'œufs dans le kyste. L'examen à frais semble montrer que l'orifice femelle n'est pas fonctionnel. En effet, les œufs projetés au moment des contractures utérines vers l'orifice génital ne parviennent jamais à sortir. Dans ces conditions, l'autofécondation normale paraissait difficilement explicable, à moins que l'on admette une perméabilité précoce du pore utérin. Des coupes séries, pratiquées dans un certain nombre de métacercaires progénétiques, nous ont permis d'élucider en partie le processus de fécondation : il ne s'agit point de parthénogénèse ; les deux testicules, parfaitement développés dans les métacercaires, sont en pleine activité fonctionnelle (métacercaires de 15 à 60 jours). Ils dégénèrent par la suite, lorsque l'utérus, gonflé d'œufs, ne peut plus les évacuer en raison de la particularité

anatomique que nous signalons ci-dessus. La spermatogénèse est aisément suivie et l'on distingue tous les stades de développement du spermatozoïde, depuis la zone de multiplication jusqu'aux stades de différenciation du spermatocyte de deuxième ordre en spermatide, puis en spermatozoïde. Ce dernier est de grande taille ; il mesure 15 à 18 μ .

L'ovogénèse est beaucoup moins facile à observer et il ne nous a pas été possible de distinguer, sur les coupes colorées, la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule pendant ou après la méiose. Toutefois, celle-ci ne saurait faire de doute, car de nombreux spermatozoïdes étaient présents dans les anses utérines. Observons que si, chez les métacercaires âgées, les testicules dégénèrent complètement, en revanche, l'ovaire demeure volumineux (fig. 45) et ne donne aucun signe de dégénérescence. Au bout de 8 à 10 mois cependant, nous avons vu que cette dégénérescence s'effectue et que l'ovaire disparaît à son tour.

L'autofécondation nous semble, dans ce cas, absolument certaine ; sans faire, croyons-nous, preuve de finalisme, remarquons qu'il serait sans doute sans exemple qu'un organe puisse conserver une activité fonctionnelle aussi intense que celle des glandes génitales mâles de ce distome, si cette activité devait demeurer sans objet. L'histoire du développement embryologique des êtres vivants a toujours démontré, au contraire, qu'un organe devenu inutile ne persiste chez l'adulte qu'à l'état rudimentaire. Nous retrouverons ce problème à propos de la fécondation des œufs de *Ratzia joyeuxi*, chez lequel la structure testiculaire est nettement anormale et où la présence de spermatozoïdes n'a pu être décelée. Néanmoins, le tractus génital mâle est entièrement développé ; la vésicule séminale, sorte de manchon sacciforme à double renflement, est même exceptionnellement volumineuse. Le *receptaculum seminis* est également présent et souvent assez gros.

Par quelle voie se fait la fécondation chez *Paralepoderma brumpti* ? Nous n'avons pu mettre en évidence avec certitude, sur nos préparations *in toto*, le canal de Laurer. Les préparations les plus démonstratives étaient celles des métacercaires de 15 jours, sexuellement mûres, et où le nombre des œufs n'était pas trop élevé, permettant de distinguer l'ovaire et ses dépendances ; un canal transparent, assez large, semble remonter à une certaine distance de l'ovaire vers l'acetabulum. Les coupes frontales nous ont parfois montré, derrière la ventouse ventrale, non loin de la poche du cirre, un canal large rempli de spermatozoïdes, et deux autres plus petits contenant également de très nombreux spermatozoïdes. Le premier pourrait vraisemblablement correspondre au canal de Laurer, seule voie de fécondation possible, semble-t-il, dans ce cas particulier.

R.-Ph. Dollfus (1950), étudiant les différents distomes qu'il assimile à *P. cloacicola*, parmi lesquels il comprend *Paralepoderma brumpti*, admet, sans être tout à fait affirmatif, qu'ils possèdent un canal de Laurer (p. 148).

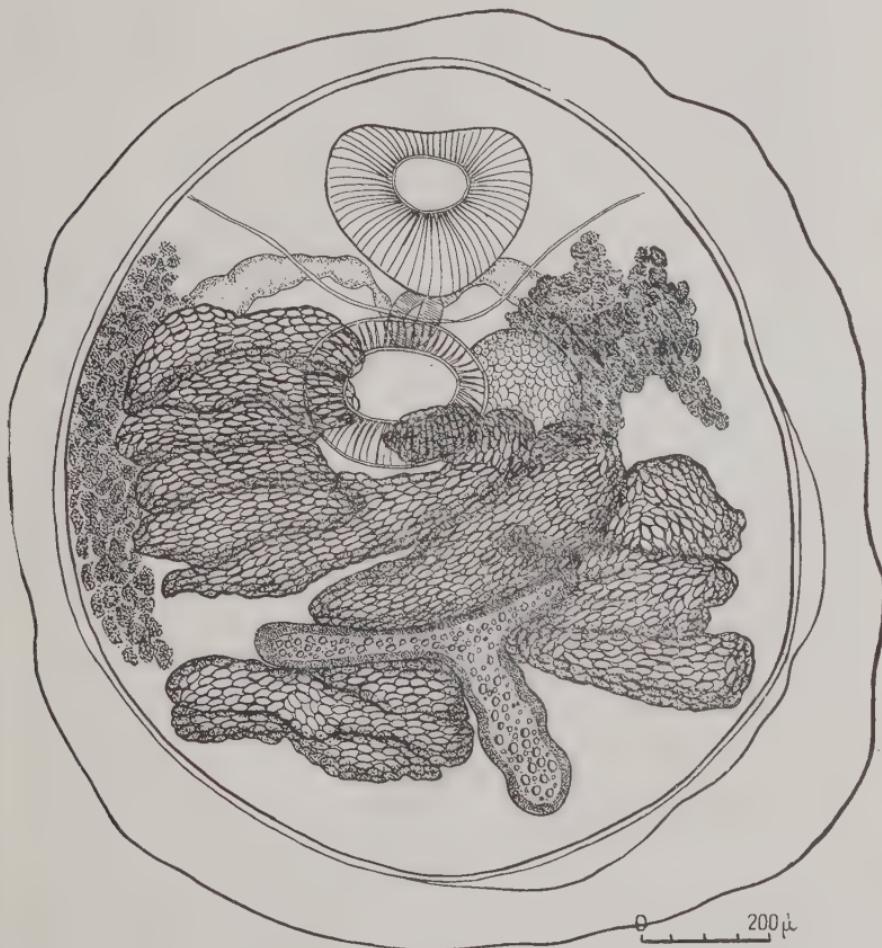


FIG. 45. — Métacercaire progénétique âgée de *Plagiorchis brumpti* avec xénokyste réactionnel. Remarquer l'ovaire encore assez volumineux. (Orig.)

Les deux autres canaux sectionnés que l'on voit sur le même plan dans de nombreuses coupes transversales successives, entre le sommet des testicules et l'acetabulum, seraient les canaux déférents,

peut-être réunis en un seul vers la partie médiane, ce canal unique dessinant alors quelques sinuosités. Une dizaine de métacercaires de 15 et 36 jours, diversement orientées, ont été ainsi examinées par nous sur des coupes sériées. Sur chacune de ces coupes, nous avons pu constater l'activité sexuelle intense et l'extrême fécondité de ce distome. De nombreux spermatozoïdes étaient toujours présents dans l'utérus, les canaux déférents, la poche du cirre et le canal de Laurer, si le large conduit situé non loin de l'acetabulum lui est assimilable. Ces observations ont été complétées par l'étude d'une trentaine de métacercaires progénétiques de 15 à 36 jours, montées *in toto* et colorées à l'hémalun ou au carmin chlorhydrique, qui nous ont permis de mieux interpréter les coupes et de les localiser dans l'espace.

Nous concluons donc à une autofécondation, processus dont l'efficacité se révèle aussi grande que celle de la fécondation croisée chez des distomes adultes. Elle fait de la métacercaire progénétique de *P. brumpti* un adulte véritable. L'ouverture précoce du pore utérin, suivie de sa fermeture, reste très improbable, puisqu'en 15 jours déjà, de nombreux œufs sont formés, et qu'en dépit des contractions régulières de l'utérus, aucun œuf n'est évacué dans le kyste. D'autre part, le fait que la spermatogénèse se manifeste pendant toute l'évolution sexuelle de l'animal et que le nombre des œufs s'accroît sans cesse et dans des proportions considérables, rend plus vraisemblable l'accomplissement de la fécondation par le canal de Laurer. Cette fécondation se poursuit pendant toute la période d'activité génitale de la métacercaire. Au bout de deux mois, les testicules dégénèrent, mais la métacercaire chargée d'œufs, prêts pour la dissémination, peut persister fort longtemps dans les tissus de son hôte.

Longévité et rôle pathogène

Cette métacercaire présente en effet une grande longévité ; elle peut vivre plusieurs mois en état de vie ralenti ; sa croissance étant achevée et son activité sexuelle éteinte, les exigences de son métabolisme deviennent très discrètes. Un jeune têtard d'*Alytes obstetricans* (Laur.), pesant environ 1 gramme, déjà infesté par 50-60 cercaires d'*Opisthioglyphe ranæ* et de *Leptophallus nigrovénosus*, a été exposé, le 21 octobre 1949 et les jours suivants, à 20-30 cercaires de *Paralepoderma brumpti*, faciles à distinguer des premières en raison de la taille et du caractère progénétique de leurs métacercaires (exp. 588/A.B.-I).

Ce têtard, bien que maintenu en état constant de sous-alimentation pour empêcher sa métamorphose, était encore en parfaite santé

quand il fut sacrifié le 28 août 1950, soit environ 310 jours après son infestation par les cercaires de *P. brumpti*.

Nous avons retrouvé dans son corps, sans altération, la majeure partie de ses métacercaires. Les seules modifications observées dans les kystes de *P. brumpti* résidaient dans une disparition graduelle des glandes génitales et de l'appareil vitellin.

Les œufs semblaient en parfait état et leurs miracidiums, bien constitués, nous ont servi de point de départ pour une nouvelle infestation expérimentale de *Planorbis planorbis* d'élevage (exp. 690/A.B.-I).

Nous avons examiné les œufs situés près de l'extrémité utérine, représentant par conséquent ceux qui sont arrivés les premiers à maturité. Comme nous avons pu observer, au cours de nos expériences d'infestation de planorbes, que le miracidium des œufs des kystes progénétiques était déjà infectieux au bout de 15 jours (exp. 540/A.B.-I), et que, d'autre part, l'utérus étant obturé, ces œufs sont contraints de poursuivre leur évolution *in situ*, on peut affirmer que, chez le têtard d'*Alytes* « 588 », les métacercaires de *P. brumpti* présentaient dans les œufs utérins voisins du pore génital des miracidiums restés vivants pendant 9 mois et demi. Cette longévité, étant donné l'excellent état des œufs, doit vraisemblablement s'étendre à la durée de la vie de la métacercaire et peut-être au delà.

La longévité de la métacercaire est elle-même fonction de celle de l'hôte qui l'héberge : nous avons ainsi pu constater qu'en prolongeant artificiellement l'existence du têtard « 588 », l'adaptation parfaite de la métacercaire de *P. brumpti* au métabolisme ralenti de son hôte lui permet de participer à la prolongation d'existence de ce dernier, sans perdre pour autant son rôle actif dans la conservation de l'espèce.

Que deviennent les kystes au moment de la métamorphose ? C'est ce que nous n'avons pu savoir, n'ayant pu conserver en laboratoire des têtards métamorphosés.

Le rôle pathogène est ainsi presque nul. Il n'y a certainement pas production de toxines. Seuls, les effets mécaniques déterminent occasionnellement de petites hémorragies. Une métacercaire progénétique, logée dans l'angle interne de l'œil d'un têtard, à côté de deux kystes non progénétiques d'*Opisthioglyphe ranæ*, s'est développée normalement, sans causer à son hôte aucune perturbation mécanique ou toxique.

Conclusions

L'étude du cas de progénèse de *Paralepoderma brumpti* nous suggère les réflexions suivantes :

Le processus possède ici un caractère *impératif* : toutes les métacercaires de cette espèce deviennent progénétiques chez le têtard-hôte, alors que celles des autres espèces gyrrinophiles y demeurent à l'état larvaire, quelle que soit la durée de leur habitat chez cet animal. Le développement rapide de la progénèse se déroule sans le concours apparent de facteurs extérieurs ; tout au plus, la température peut-elle accélérer légèrement le rythme de cette évolution. Le déterminisme reste probablement ici *sous l'entièrerie dépendance de facteurs inscrits dans le patrimoine héréditaire*.

La progénèse fait de la métacercaire de *P. brumpti* un *adulte véritable* : il en a la maturité sexuelle et la fécondité.

La progénèse abrège dans ce cas le cycle évolutif normal.

Pourquoi ce parasitisme, dont le développement n'exige plus que deux hôtes, ne se répand-il pas davantage dans la nature ? Depuis de longues années, en effet, des *Planorbis planorbis* ont été récoltés à Richelieu ; depuis longtemps également, les métacercaires de têtards de batraciens ont été étudiées par différents chercheurs ; c'est la première fois cependant que, l'an dernier, une métacercaire progénétique a été observée par nous, en Indre-et-Loire, chez des batraciens larvaires. D'autre part, nous avons examiné à nouveau, cette année, plus de 250 *Planorbis planorbis* du même gîte, dont aucun, après isolement pendant plusieurs jours, n'a présenté la cercaire de *Paralepoderma brumpti*.

Cette rareté peut être due au fait que le phénomène est d'apparition récente ; il se peut aussi que la spécificité très étroite du miracidium pour *Planorbis planorbis* (mollusque assez peu répandu dans la région et que son habitat hivernal, profondément enfoui dans la terre, met à l'abri en cette saison de toute contamination) diminue considérablement les chances d'infestation. Enfin, il ne faut pas oublier que la libération des œufs ne se produit qu'après la mort du têtard. Comment se réalise-telle dans la nature ? Nous n'en savons rien. Faut-il qu'un animal prédateur ingère le têtard et que les œufs, mis en liberté par les sucs digestifs, traversent passivement le tube digestif et soient éliminés avec les selles, pour que les mollusques puissent être infestés ? Nous ne savons pas davantage ce que deviennent les métacercaires chez le batracien après sa métamorphose. Ceux que nous avons conservés au laboratoire n'ont jamais vécu bien longtemps. Il est possible que la métacercaire dégénère chez le batracien adulte et ne puisse ainsi jouer son rôle dans la conservation de l'espèce.

(à suivre).

*Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
et Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire)
(Dir. : Prof. H. Galliard) (Dir. honor. : Prof. E. Brumpt)*

RECHERCHES SUR L'INFESTATION EXPÉRIMENTALE A *STRONGYLOIDES STERCORALIS* AU TONKIN

(2^e note)

Par **Henri GALLIARD**

VIII. — LES SOUCHES IMPORTÉES

Nous avons eu l'occasion d'isoler de deux malades infestés, dans des régions éloignées du Tonkin, des souches que nous avons étudiées comparativement aux souches locales.

I) Souche Tr. (1.425), Antilles. — La formule du développement exogène chez l'homme était mixte avec cycle indirect prédominant (2, 76, 22). Il y avait 40 larves par gramme de selles. La fécondité des femelles rhabditoides était de 26 œufs environ.

Quatre chiens ont été infestés avec la coproculture des selles du patient.

100 larves sur la peau, autopsie au bout de 15 jours	0 ♀
2.000 larves sur la peau, autopsie au bout de 14 jours	0 ♀
100 larves sous la peau, autopsie au bout de 13 jours	12 ♀
2.000 larves sous la peau, autopsie au bout de 15 jours	53 ♀

La coproculture de ce dernier chien a servi à infester trois autres chiens (2^e passage) :

10.000 larves sous la peau, autopsie 4^e jour : rien dans duodénum, trachée, poumons.

20.000 larves sous la peau, autopsie 12^e jour : rares femelles immatures dans duodénum ; rien dans trachée et poumons.

2.000 larves sous la peau, autopsie 14^e jour : 20 ♀ dans duodénum jusqu'à 40 cm. du pylore ; 40 larves par gr. dans duodénum ; jamais de larves dans les selles.

Ainsi, le chien si sensible aux souches locales ne peut être infecté par voie cutanée. Par voie sous-cutanée, il existe une différence considérable entre la virulence de cette souche par rapport à la souche Th., par exemple, qui donne près de 500 femelles pour 2.000 larves dans le même temps.

II) Souche Afrique du Nord (2.404). — Le malade présente 1.245 larves par gramme de selles. La coproculture donne un type de développement exogène mixte (formule : 34, 40, 26). La fécondité des femelles rhabditoides est de 41 œufs.

SOUCHE AFRIQUE	CYCLE DIRECT				CYCLE INDIRECT			
	L. stron- gyloï- des %	Femel- les %	Mâles %	Femel- les retrou- vées	L. stron- gyloï- des %	Femel- les %	Mâles %	Femel- les retrou- vées
Homme....	33	40	27		33	40	27	
1 ^{er} passage.	43	33	24	120	45	35	20	178
2 ^e passage..	64	24	12	84	60	24	16	69
3 ^e passage..	67	15	18	17	00	00	00	0
4 ^e passage..	0	0	0	0				

CYCLE MIXTE (2 SÉRIES)

SOUCHE AFRIQUE	L. stron- gyloï- des %	Femel- les %	Mâles %	Femel- les retrou- vées	L. stron- gyloï- des %	Femel- les %	Mâles %	Femel- les retrou- vées
Homme....	33	40	27		33	40	27	
1 ^{er} passage.	47	39	14	194	42	38	20	+
2 ^e passage..	59	22	19	121	60	21	19	+
3 ^e passage..	61	18	21	21	59	20	21	+
4 ^e passage..	0	0	0	0	0	0	0	0

Contrairement à la souche précédente, les chiens ont pu être infestés par la peau. Quatre séries de passages ont été établies avec 500 larves des cycles direct, indirect, et larves mixtes (deux séries). L'autopsie a été faite le 40^e jour. Un 5^e chien inoculé avec les larves de la 4^e série au 3^e passage ne s'est pas infecté non plus.

Ainsi, les caractères qui différencient cette souche des souches tonkinoises sont :

1) l'évolution du type d'évolution exogène vers le type direct par passages chez le chien, contrairement à tout ce que nous avons observé ;

2) la perte de virulence par passages. Le nombre des femelles dans le duodénum décroît progressivement. Un état complètement réfractaire se manifeste au troisième passage pour le cycle indirect et au quatrième passage pour le cycle direct et les larves mixtes chez cinq chiens en expérience. Les chiens réfractaires n'ont présenté à aucun moment de larves dans les selles ni de femelles dans le duodénum. L'un d'eux (3^e chien de la série mixte ayant résisté à l'infection avec 2.000 larves), surinfecté au 40^e jour avec 10.000 larves de la souche tonkinoise Th., est mort 17 jours après avec une infestation massive ;

3) aux premiers passages, les larves strongyloïdes du cycle direct se sont montrées moins virulentes que celles du type mixte, alors que le contraire s'observe généralement (voir chap. VII). Par contre, les séries directe et mixte ne sont devenues stériles qu'au cinquième passage.

L'étude de ces deux souches montre qu'il existe des biotypes géographiques différents de *S. stercoralis*, qui se distinguent par leur pouvoir infestant plus ou moins marqué pour le chien. C'est ce qui explique la divergence d'opinion concernant l'unicité ou la dualité des *Strongyloides* de l'homme et du chien.

IX. — LA STRONGYLOIDOSE EXPÉRIMENTALE CHEZ LE CHAT

Nous n'avons jamais trouvé de chat spontanément infesté par un Strongyloïde. Nous avons recherché si sa réceptivité était comparable à celle du chien.

Un certain nombre de passages ont été faits à partir de la souche Thu., au 66^e passage chez le chien, avec des larves mixtes, et à partir de deux souches canines.

SOUCHE TH.	L. STR.	SOUCHE CHIEN I		L. STR.	SOUCHE CHIEN II		L. STR.				
		♀	♂		♀	♂		♀	♂		
Chien... ...	6	72	23	Chien (21 ^e p.)	6	73	21	Chien.....	100	0	0
Chat (1 ^{er} p.)	7	76	17	Chat (1 ^{er} p.)..	8	73	19	Chat (1 ^{er} p.)	100	0	0
“ (2 ^e p.)	9	72	19	“ (2 ^e p.)..	7,2	71,8	21	“ (2 ^e p.)..	98	0,5	1,5
“ (3 ^e p.)	3,8	72,2	24	“ (3 ^e p.)..	5	76	19	“ (3 ^e p.)..	97	1	2
“ (4 ^e p.)	3	76	21	“ (4 ^e p.)..	4	73	23	“ (4 ^e p.)..	94	1	14
“ (5 ^e p.)	5,3	70,7	24	“ (5 ^e p.)..	6,8	72	21	“ (5 ^e p.)..	82	6	12
“ (6 ^e p.)	0	0	0	“ (6 ^e p.)..	5	75	20	“ (6 ^e p.)..	81	7	13
				“ (7 ^e p.)..	0	0	0	“ (7 ^e p.)..	0	0	0

La virulence a été également éprouvée sur le chat avec un nombre de larves connu :

Souche Th.....	1.200 lar.	sur la peau	4 jrs	0 ♀	0	Normal	4 larves dans l'œsophag.
—	—	—	8 “	0 ♀			
—	—	—	13 “	1 ♀	295	16 l. rh. par gr. dans duodénum.	
—	—	sous la peau	17 “	15 ♀	312	Pas de larves rhabd.,	
—	—	sur la peau	17 “	0 ♀	250	L. str. dans estomac.	
Souche chien I..	1.200 “	—	8 “	0	125	4 l. str. dans trachée.	
—	—	—	13 “	106	324	Duodénum : pas de larves.	
Souche chien II..	1.200 “	—	10 “	66		Duodénum : 6 l. par gramma.	
—	—	—	13 “	132		Duodénum : 72 larves par gr.	

Après un certain nombre de passages sur chats, la virulence a été testée de nouveau sur le chien :

Souche Th.....	3 ^e passages sur chat	500 l. sur chien	25 jours	93 femelles	contre 118 normal
— chien I. 3 ^e	—	500 l. —	25 “	152 “	“ 167 “
— chien II 4 ^e	—	500 l. —	25 “	91 “	“ 105 “
Thu ... 3 ^e	2 sur chien	500 l. —	25 “	122 “	“ 118 “
— chien II 4 ^e	2 sur chien	500 l. —	25 “	97 “	“ 105 “

Ainsi, lorsqu'une souche du chien est passée chez le chat, le type du cycle exogène reste le même s'il a atteint son point d'équilibre (souches Th. et chien I), ou tend du type direct au type mixte (souche II passée directement du chien spontanément infesté), comme chez le chien. Cependant, le chat manifeste un état réfractaire à partir du 6^e ou 7^e passage, aussi bien pour les souches humaines que pour les souches d'origine canine.

En ce qui concerne le pouvoir infestant, la souche Th. (d'origine humaine), s'est montrée beaucoup moins virulente que pour le chien, surtout par voie cutanée. Par contre, les souches chien I et surtout chien II sont d'une virulence presque normale.

Enfin, après trois et quatre passages par le chat, la virulence pour le chien était à peine diminuée.

Sandground (1928) a étudié aussi la réceptivité du chat aux souches de *S. stercoralis* d'Amérique du Nord. Il a observé également que le chat est un hôte expérimental moins favorable que le chien. L'infection est plus légère, plus éphémère, souvent abortive en une à trois semaines et dure au maximum six semaines. De plus, le chat guéri ne peut être réinfesté. Il s'immunise plus rapidement et plus uniformément que le chien. Mais l'auteur n'a pas tenté les passages en série.

Le chat est donc aussi bien en Amérique du Nord qu'au Tonkin un hôte peu réceptif et il n'existe pas de souches de *Strongyloides* (*S. cati* ou autres) spontanément adaptées à cet animal, contrairement à ce qui a été observé au Bengale par Chandler (1926), où 20 p. 100 des chats sont infestés.

X. — STRONGYLOIDOSE HYPERVIRULENTE, MORTELLE. SOUCHES HYPERINFESTANTES

La strongyloïdose est, ici, en général bénigne. Mais il arrive de rencontrer parfois des infestations massives se terminant par la mort.

Nous en avons signalé un premier cas en 1937. Il s'agissait d'un enfant de huit ans, entré à l'hôpital pour pneumonie, qui était dans un état grave et qui présentait une immense quantité de larves rhabditoïdes de *Strongyloides stercoralis*, ainsi que des larves filariformes infectieuses dans les selles fraîchement émises. Le malade mourut trois jours après son entrée, mais l'autopsie ne put être faite.

Dans un deuxième cas, que nous avons signalé déjà en 1938, c'était un malade, Ng. B. T., 41 ans, entré dans le service de clinique chirurgicale à l'hôpital du Protectorat, à Hanoï, avec une tuméfaction douloureuse de la fosse iliaque droite : il présentait une réaction péritonéale et une dysenterie semblant remonter à deux mois. La tuméfaction est incisée. L'état général est bon. Pas d'éosinophilie. L'examen des selles montre la présence d'œufs de douves, d'ascaris, de trichocéphales, mais pas de larves rhabditoïdes. A partir du cinquième jour, le malade présente de la diarrhée, cinq à six selles par jour. Quarante-cinq jours après son entrée, on fait un nouvel examen de selles qui montre la présence de très nombreuses larves rhabditoïdes. Le malade présente alors dix selles par jour, fluides, noirâtres, en petite quantité, sans ténèse, ni épreintes. L'état général est à ce moment très altéré, l'asthénie extrême, anorexie, cachexie. La mort se produit quatre jours après.

A l'autopsie, on trouve une péritonite plastique diffuse. Une grosse poche d'abcès prévésical contient du pus et des selles avec de nombreuses larves rhabditoïdes. Le duodénum contient de nombreuses femelles, œufs et larves rhabditoïdes de *Strongyloides* et des larves strongyloïdes en voie de transformation. Le cæcum présente de grosses ulcérations probablement d'origine amibiennne, avec deux perforations situées au-dessus de l'abouchement de l'iléon. On trouve quelques larves filariformes dans la partie terminale de l'intestin, mais les coupes ne montrent pas la pénétration de ces larves à travers la paroi (obs. complète in Thèse Lau, Hanoï, 1938).

Dans un troisième cas, il s'agissait d'une femme de 30 ans, N. T. T., entrée le 1^{er} juillet 1939 dans le service de clinique chirurgicale pour prolapsus rectal. Pas d'intervention en raison de l'état de cachexie avancé de la malade. Elle présente depuis un mois une diarrhée muqueuse. On trouve dans les selles un très grand nombre de larves rhabditoïdes et strongyloïdes enrobées dans du mucus. Du mucus prélevé à l'aide d'une sonde dans le rectum, à dix centimètres environ de l'anus, montre également la présence de nombreuses larves rhabditoïdes et strongyloïdes. Deux jours après son entrée, la malade meurt. L'autopsie n'a pu être pratiquée.

Dans un quatrième cas, il s'agit d'un malade, B., 40 ans, entré à l'hôpital pour diarrhée depuis deux mois. Mort deux jours après. De nombreuses larves rhabditoïdes sont trouvées dans les selles, mais pas de larves strongyloïdes. A l'autopsie, pratiquée par notre assistant le Dr Ngu, on trouve dans le duodénum et l'intestin grêle antérieur un nombre considérable de femelles mûres et en voie de développement, des larves rhabditoïdes jusqu'à trois mètres du

pylore. Des larves strongyloïdes existent dans le duodénum et la première partie du grêle. Les coupes histologiques ne permettent pas de déceler la pénétration des larves à travers la paroi intestinale.

Dans un cinquième cas, déjà signalé en 1928, il s'agit d'une femme de 35 ans, Ng. Thi-V., entrée dans le service de clinique médicale pour œdème de la face et des pieds. On trouve dans ses selles de très nombreuses larves d'anguillules. Le début remonte à deux mois. La malade a présenté des crises diarrhéiques devenant de plus en plus fréquentes. A la fin, la diarrhée devient profuse, la malade meurt dans un état de cachexie complète. A l'autopsie, on trouve de nombreuses femelles de *Strongyloides stercoralis* dans le duodénum. Pas de larves strongyloïdes. La muqueuse de l'intestin grêle et surtout du côlon présente de très nombreuses ulcérations à l'emporte-pièce, qui montrent, en coupe histologique, des foyers de suppuration et de nécrose de la muqueuse et de la sous-muqueuse avec des éosinophiles. Des femelles d'anguillule et des œufs sont logés dans certaines de ces ulcérations. Mais la pénétration de larves dans l'épaisseur de la paroi n'a pu être observée.

Comme dans la plupart des pays d'Asie, les individus, malgré les contaminations auxquelles ils sont perpétuellement exposés, témoignent d'une résistance raciale certaine vis-à-vis de la strongyloïdose et de l'ankylostomose.

Quelle peut être alors la cause de ces quelques cas d'infestation graves et mortels ? Ils ne sont certainement pas dus à une contamination massive dans le milieu extérieur, car ces cas seraient beaucoup plus fréquents qu'ils ne le sont. D'ailleurs, notre malade n° 2 en est une preuve, puisque son infestation a crû en intensité pendant son séjour à l'hôpital.

Grassi et Segré, dès 1887, et Leichtenstern, en 1898, avaient déjà trouvé nécessaire d'admettre la possibilité d'une auto-infestation, c'est-à-dire le passage direct de larves strongyloïdes, prématurément formées dans l'intestin, à travers la paroi intestinale, pour expliquer la longue persistance de la strongyloïdose qui peut, dans certains cas, durer 20 ou 30 ans. En 1911, Darling, à Panama, trouve de nombreuses larves dans la paroi intestinale et suggère que ces larves peuvent se transformer directement. Gage, en 1910-1911, découvre des larves strongyloïdes dans les crachats d'un malade de la Nouvelle-Orléans, et à l'autopsie, trouve des larves dans toutes les couches de la paroi intestinale et les lymphatiques. Mais l'auteur ne spécifie pas la nature de ces larves. Il conclut à une auto-infestation. Yokogawa, en 1913, trouve des larves filariformes dans l'intestin et dans les vaisseaux de la rate. Thira (1919), a vu des larves filariformes dans la *muscularis mucosæ*, les vaisseaux lymphatiques, les veines sous-muqueuses ; Ohira et Shimura (1919-1920), en trouvent dans les crachats d'un pa-

tient et à l'autopsie, retracent toute la migration des larves depuis l'intestin jusqu'aux bronches. Shimura et Ogawa (1920) trouvent des œufs de larves rhabditoïdes et strongyloïdes dans les crachats d'un malade au cours d'une auto-infestation. Stekhoven (1928), trouvant des larves filariformes dans les selles, conclut à la possibilité d'une auto-infestation. Ophuls (1929) a vu de très nombreuses larves filariformes dans la sous-muqueuse et la musculeuse du côlon, ainsi que dans les ganglions mésentériques. D'où il conclut que les larves infectieuses se forment dans l'intestin. Froès (1929) a trouvé des larves rhabditoïdes dans les poumons et dans un exsudat hémorragique pleural d'un malade présentant une infestation intestinale intense. Faust (1930) a trouvé 7 fois, sur 17 cas de strongyloïdose, des larves filariformes dans les selles. Il proposa pour ces souches le nom d' « hyperinfective strains », pensant que c'était elles qui étaient responsables du phénomène d'auto-infestation. Kreis (1932) a trouvé des larves filariformes dans les selles. Yoshino (1932), sur 25 cas observés, a vu la mort se produire 13 fois, du fait de complications broncho-pulmonaires. Dans un cas on trouvait des œufs et des formes rhabditoïdes dans les crachats, dans deux autres, des larves filariformes. D'où, pour l'auteur, possibilité d'auto-infestation due à la présence de femelles dans les bronches. En 1936, Nolasco et Africa rapportent un cas mortel par ileus paralytique avec infestation considérable par les vers adultes et invasion générale par les larves filariformes. En 1938, Torres et P. de Azevedo trouvent dans deux cas des larves rhabditoïdes émigrant d'ulcères de la muqueuse colique par voie des lymphatiques mésocoliques, des veines coliques, au foie et aux poumons. D'où hyperinfestation. En 1940, Faust et de Groat ont rapporté un nouveau cas chez un garçon de 12 ans, affamé et moribond. De nombreuses larves rhabditoïdes émigraient dans la *muscularis mucosæ* du grêle, et se transformaient en larves naines, délicates, filariformes. On les trouvait jusqu'à la séreuse et dans les veinules, mais beaucoup passaient dans le péritoine. Il y avait également, dans le cæcum et l'appendice des femelles, des larves rhabditoïdes, et dans la profondeur, des larves strongyloïdes. Dans les ganglions mésentériques, on trouvait quelques larves filariformes. Dans le foie, des larves filariformes étaient présentes dans les espaces porte. En dépit de l'action toxique et traumatique sur la muqueuse, la réaction locale était nulle. Une fois que les larves avaient rompu la barrière de la *muscularis mucosæ*, le dommage était nul, sauf une apparition modérée d'éosinophiles.

Lie Kian Joe (1940) a observé chez un pêcheur japonais la présence de quantités énormes de larves rhabditoïdes dans les fèces et le liquide duodénal. En plus, des larves filariformes furent trouvées dans les vomissements.

Hartz (1946) a rapporté un cas d'auto-infection à Curaçao. L'autopsie fut pratiquée 40 minutes après la mort, ce qui élimine certaines possibilités de transformation des larves *post-mortem*.

Les vers adultes se trouvaient exclusivement dans le duodénum. Les larves, presque toutes filariformes, avaient envahi la paroi du grêle et

surtout du côlon, indépendamment de toute lésion ulcérate, et formant des granulomes à éosinophiles, aussi bien dans le mésocôlon que dans le foie.

Au point de vue expérimental, Fulleborn (1924 et 1926) ne réussit pas à produire l'auto-infestation par voie interne chez les mammifères. Thira (1929) obtint une infestation du chien par inoculation intrarectale de selles fraîches. Ohira et Shimura (1920) réussirent à obtenir l'auto-infestation chez le chien. Nishigori (1928) à la suite de recherches expérimentales très complètes, est arrivé à la conclusion que les larves rhabditoïdes de l'intestin peuvent se transformer en larves strongyloïdes dans certaines circonstances, et produire une auto-infestation. Faust, avec ses collaborateurs, en 1934, a rapporté une preuve certaine de l'auto-infestation chez le chien en montrant que le nombre des femelles retrouvées dans l'intestin était souvent supérieur à celui des larves inoculées. D'autre part, l'infestation de deux chiens par l'inoculation de larves strongyloïdes dans le cæcum permet, d'après l'auteur, de démontrer la possibilité de l'auto-infestation.

Cependant, Fulleborn (1926), à la suite de ses échecs expérimentaux, avait émis une hypothèse différente, celle de l'auto-infestation par voie cutanée. Il avait pensé que la transformation et la pénétration des larves se faisaient au niveau de la peau de la région péri-anale, dans des traces de matières fécales. Il signalait l'apparition dans cette région, dans les cas d'infestation importante, de larges placards dus probablement à la pénétration de larves strongyloïdes. Chez des individus cachectiques, diarrhéiques, c'est une explication qui présente une certaine valeur, mais pour Nishigori, l'auto-infestation par voie externe ne serait qu'une extension du processus intra-intestinal.

Il est à noter aussi que la présence de *Strongyloides* femelles dans le poumon est également une source de réinfestation.

Ainsi donc, l'auto-infestation, qu'elle se produise par voie interne, intra-intestinale, ou qu'elle soit extra-intestinale, comme l'a montré Fulleborn, est admise par la plupart des auteurs comme une explication de ces infestations intenses, se terminant par la mort.

Dans les cas observés par nous, l'auto-infestation est cliniquement démontrée dans le cas de notre malade n° 2, qui avait probablement, à son entrée à l'hôpital, un parasitisme léger, indécelable par le premier examen, mais qui présentait une infestation intense au bout de quarante-cinq jours.

Ces faits ne sont pas niables. Au cours d'autopsies de cas où la strongyloïdose était accessoire, nous avons trouvé des larves strongyloïdes soit dans le duodénum, soit dans l'intestin grêle. Il est évident que ces larves, venues par voies œsophagienne et gastrique et destinées à se transformer en femelles, provenaient d'une auto-infestation produite au cours du séjour du malade à l'hôpital, puis-

qu'il faut environ douze jours pour que le cycle s'accomplisse. D'autre part, la présence, du vivant du malade, ce qui écarte l'hypothèse d'une transformation *post-mortem*, dans le côlon et l'ampoule rectale, d'un grand nombre de larves strongyloïdes infestantes provenant de la transformation prématuée des larves rhabditoïdes, montre qu'il y a possibilité de passage à travers la paroi intestinale. Mais nous ne pouvons pas donner une preuve histologique, comme certains auteurs l'ont fait, de la pénétration de ces larves.

Expérimentalement, nous avons dit que Faust, Thira, par inoculation des selles contenant des larves strongyloïdes dans le côlon des chiens et infestation consécutive, avaient démontré la possibilité de l'auto-infestation. Et nous en avons aussi donné la preuve par introduction directe de larves strongyloïdes par laparotomie pratiquée aseptiquement, dans le duodénum, l'intestin grêle, le cæcum et le côlon du chien. D'après nos recherches, il paraît même évident que la voie colique est la plus favorable, plus favorable même que la voie transcutanée. La possibilité de pénétration de larves infectieuses à travers l'intestin ne peut donc faire de doute.

De plus, l'auto-infestation a été invoquée comme seule explication de l'extraordinaire ténacité d'infestations légères. Nous avons souvent trouvé des formes évolutives dans l'intestin, à l'autopsie, même dans des cas de strongyloïdose bénigne sans aucune gravité.

Cependant, nous ne pouvons admettre l'opinion de Nishigori : la transformation prématuée de larves rhabditoïdes en strongyloïdes serait un phénomène banal dû au ralentissement du transit intestinal. S'il est probable qu'un certain nombre de larves subissent cette transformation, même dans les cas bénins, ce qui explique l'extraordinaire ténacité de la strongyloïdose, il nous semble que la durée du transit n'a rien à voir avec ce phénomène. Nous avons souvent constaté que des larves prélevées dans le duodénum mettaient le même temps à se transformer que celles trouvées dans l'ampoule rectale. Les malades observés par nous étaient atteints de diarrhée profuse et si l'on considère que, dans ces infestations massives, des femelles sont situées très bas dans la paroi intestinale, la durée du séjour des larves dans l'intestin en était singulièrement raccourcie.

Puisque ce phénomène semble se produire dans tous les cas bénins ou graves, il faut admettre que d'autres facteurs interviennent pour expliquer ces infestations massives qui se terminent par la mort.

L'explication la plus simple est évidemment celle de l'infestation par voie cutanée (Fulleborn) : la transformation des larves rhabditoïdes en larves strongyloïdes, au niveau de la peau de la région

péri-anale, et la réinfestation immédiate consécutive chez des malades diarrhéiques, cachectiques, mal soignés, trop faibles pour se déplacer, peut se faire en quelques minutes, dans des conditions favorables de température et d'humidité. Mais, comme l'a noté Nishigori, le processus externe, cutané, n'est que l'extension du processus par voie interne.

En ce qui concerne l'auto-infestation par voie interne, d'abord on peut se demander si l'existence d'ulcérations peut favoriser le passage des larves à travers la paroi intestinale. Deux de nos malades présentaient en effet des ulcérations d'origine dysentérique et même des perforations. Un autre malade présentait de nombreuses ulcérations non amibiennes, dans lesquelles on trouvait parfois des vers femelles. Mais nous ferons remarquer que certains auteurs ont démontré histologiquement le passage des larves à travers un intestin sain. Nous l'avons démontré expérimentalement chez le chien. Nous avons vu également des malades atteints de typhoïde ou de dysenterie qui présentaient une strongyloïdose peu importante, qui persista après la guérison, mais ne fut nullement aggravée. Ainsi, l'existence de lésions intestinales peut favoriser l'auto-infestation, mais n'en est pas une condition nécessaire.

Nous avons dit que Faust a montré qu'il existait des souches qu'il appela *hyperinfestantes* (hyperinfective strains), caractérisées par la présence de larves filariformes formées directement dans l'intestin et trouvées dans les selles fraîchement émises. Mais Faust, qui avait observé le type hyperinfestant pur sept fois sur vingt-sept cas, n'a pas précisé si cela correspondait à un état clinique ou à un degré d'infestation particulier.

On peut en effet se demander si la strongyloïdose massive est due à l'existence d'une souche spécialisée et si la gravité des cas n'est pas liée au mode de développement exogène de la souche infestante.

Dans les cas mortels observés par nous, deux fois le type direct était pur, une fois il était nettement prédominant. Il est évident qu'une souche du parasite dont la majorité et parfois la totalité des larves rhabditoïdes se transforment directement en larves infestantes, capables de traverser immédiatement la peau ou l'intestin, est plus apte à déterminer une infestation grave que des souches où prédomine le cycle indirect sexué et qui par conséquent ne formeront des larves infestantes que quatre ou cinq jours plus tard.

Mais, par contre, nous avons étudié des souches du type direct pur, provenant d'un cas de strongyloïdose extrêmement léger, sans aucune manifestation clinique. La virulence d'une souche n'est donc pas obligatoirement liée au type de développement exogène direct.

On peut se demander si les cas de strongyloïdose mortels ne sont pas dus à certaines races de *S. stercoralis* particulièrement virulentes. Dans ces cas, on observe en effet deux particularités : l'existence de très nombreuses larves infestantes dans l'intestin terminal et dans les selles fraîchement émises, et, à l'extérieur, la transformation immédiate des larves rhabditoïdes en larves infestantes dans les selles émises. Cette transformation, qui d'habitude demande 23 heures environ, se fait dans ces cas en quelques minutes, d'où chez ces malades la possibilité d'être réinfestés par voie intestinale d'une part et par voie cutanée d'autre part.

Nous avons cherché à savoir si ces caractères d'hypervirulence chez l'homme se conservaient par passage expérimental. Avec les larves filariformes prélevées directement dans le rectum de la malade, nous avons infesté un chien par voie intra-rectale, en donnant ainsi la preuve de la possibilité de l'auto-infestation par voie interne, et deux chiens par voie transcutanée. La virulence de la souche s'est rapidement atténuée et, à partir du cinquième passage, elle a conservé pendant 88 passages sur chien, en cinq ans, une virulence et un type d'évolution exogène remarquablement fixes.

Nous avons cherché aussi, à différentes reprises, à reproduire ce type pernicieux par l'inoculation de quantités considérables de larves à des chiens et des chats nouveau-nés. Il s'est produit une accélération de la formation des femelles parasites et de leur ponte, et des modifications du cycle de développement endogène et exogène comparables à celles que nous avons observées chez l'homme.

Mais, cependant, s'il existait des races hyperinfestantes, elles seraient contagieuses, on pourrait retrouver la filière des différents cas. Or, ici, nous n'avons pas encore la notion de strongyloïdose grave épidémique. Les cas mortels observés sont sporadiques et infiniment rares.

Nous avons démontré (1942) la remarquable malléabilité des caractères biologiques et de la virulence de *S. stercoralis* sous l'action des agents physiques, comme le froid, dans son évolution exogène, et des agents chimiothérapeutiques dans sa vie parasitaire. Nul doute que des conditions d'ordre humoral dépendant de l'hôte puissent intervenir également pour modifier la biologie du parasite de façon si profonde.

On peut donc admettre qu'une souche de parasite, même possédant toutes les propriétés biologiques nécessaires pour devenir hyperinfestantes, ne le devient que si l'hôte parasité lui offre un terrain favorable et lui confère des propriétés nouvelles.

Nous avons constaté en effet, dans les cas mortels, que le parasitisme massif survenait en général pour compliquer un état général

très déficient : tuberculose, dysenterie, péritonite chroniques. La plupart des observations des auteurs que nous avons cités concernent des individus à l'état de cachexie, de famine, de misère physiologique.

Par contre, chez des malades résistants, une maladie aiguë générale, et même un état inflammatoire grave de l'intestin, comme la typhoïde ou la dysenterie, ne modifient aucunement l'importance du parasitisme qui présente identiquement les mêmes caractères après la guérison.

La strongyloïdose aggrave donc l'état général et elle est favorisée par lui. Nous pensons que, chez ces malades, ce sont les modifications du milieu intestinal qui favorisent la transformation en masse, immédiate et prématuée, des larves rhabditoïdes en larves filarioïdes. La surinfestation massive qui en résulte hâte la mort du malade, mais n'en est pas la cause directe : elle en est le signe prémonitoire et annonciateur.

XI. — L'IMMUNITÉ DANS LA STRONGYLOÏDOSE EXPÉRIMENTALE CHEZ LE CHIEN ESSAIS DE VACCINATION

Nous avons signalé dans les chapitres précédents les différences qui existaient dans l'infection expérimentale chez le chien entre les souches de *Strongyloides stercoralis* du Tonkin et celles du Nouveau Monde.

Nous n'avons jamais constaté en particulier la guérison spontanée chez le chien, ni l'état réfractaire qui se manifeste, d'après Sandground, au bout de quelques semaines (chap. VII), rendant la surinfestation impossible.

Cette absence d'immunité, dans nos expériences, est démontrée par le fait que le taux de l'infestation avec un nombre donné de larves peut se maintenir pendant des mois.

Par ailleurs, la diminution du nombre des larves rhabditoïdes et les longues périodes de latence, qui d'après Sandground font prévoir la guérison, ne signifient nullement une réduction du nombre des femelles, qui sont toujours retrouvées en nombre proportionnel au nombre des larves infestantes.

Nous avons constaté à plusieurs reprises que des chiens pouvaient être tués par une surinfestation massive au cours d'une période de

latence, soit avant, soit après la période de deux mois fixée par Sandground pour l'établissement de l'état réfractaire.

Nous avons cherché aussi à savoir si les chiens réinfestés périodiquement avec un nombre restreint de larves pouvaient en définitive avoir un nombre de vers dans le duodénum correspondant à celui que l'on obtient en les infectant en une fois par le même nombre de larves. La souche Thu. a été utilisée.

1 ^{re} INOCUL.	DURÉE	2 ^e INOCUL.	DURÉE	3 ^e INOCUL.	MORT	FEMEL- LES RE- TROUVÉE	NOMBRE théorique de femelles qui aurait dû exister
20 larves..	81 jrs	100 larves			205 ^e jour	75	65
20 larves..	15 jrs	100 larves			45 ^e jour	54	65
100 larves..	39 jrs	500 larves	100 jrs	100 larves	230 ^e jour	488	284
100 larves ..	35 jrs	500 larves	45 jrs	100 larves	66 ^e jour	238	284
700 larves.. (en 1 fois)					60 ^e jour	284	

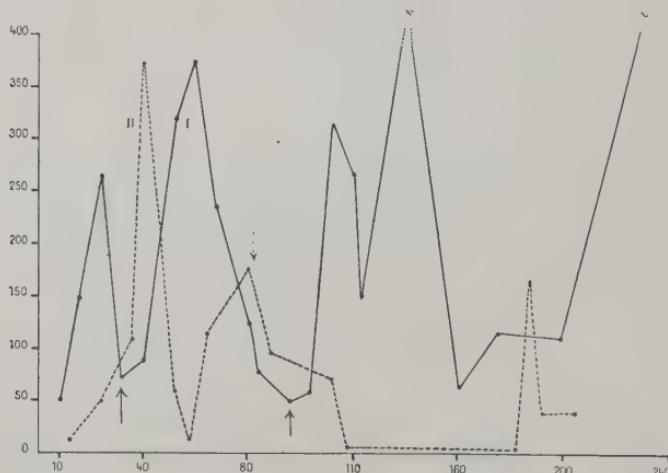


FIG. 5. — Courbe I, surinfestation avec 700 larves en trois fois. Courbe II, surinfestation avec 120 larves en deux fois (les flèches indiquent le jour de la surinfestation).

Ainsi, deux chiens surinfestés à différentes reprises avec un total de 120 larves ont présenté au moment de la mort un nombre de femelles (75) supérieur à celui que l'on aurait obtenu en une fois (65).

Il en est de même pour le second chien qui, infesté avec 100, 500, 1.000 larves, successivement, est mort le 230^e jour de l'expérience avec 488 femelles, alors que le témoin infecté avec 700 larves à la fois ne présentait que 284 vers au bout de 60 jours (fig. 4).

Même si ce fait était dû à une surinfection accidentelle, ce serait la preuve qu'il n'existe pas chez ce chien aucun état de prémunition du fait des premières inoculations. Il semble donc qu'au lieu de prémunition, il se produise un phénomène de sensibilisation. Il est une fois de plus évident que les races de *S. stercoralis* étudiées par nous sont très différentes biologiquement de celles du Nouveau Monde.

Essais d'immunité croisée. — Nous avons cherché à savoir également si les différentes souches d'origine humaine ou canine que nous avons isolées chez les chiens étaient susceptibles de conférer un état de prémunition les unes contre les autres (tableau XI).

TABLEAU XI

IMMUNITÉ CROISÉE SOUCHES	LARVES 1 ^e INOCUL.	DURÉE EN JOURS	LARVES 2 ^e INOCUL.	DURÉE EN JOURS	DURÉE TOTALE	NOBRE DE FEMELLES RETROU- VÉES	NOBRE THÉORIQUE de femelle, qui auraient dû exister
Thu + Arn.....	500	35	3.000	25	60	426	640
Arn + Thu.....	500	40	3.000	25	65	698	885
Thu + Chien.....	500	35	3.000	25	60	937	990
Arn + Arn.....	500	40	3.000	25	65	398	937
Ch. + Thu.....	500	35	3.000	25	60	911	970
Chien + Chien...	500	35	3.000	25	60	721	1.039
Thu + Thu.....	500	35	3.000	24	59	671	907
Thu + Fus.....	500	35	1.000	25	60	219	440
Fus. + Th.....	500	35	1.000	25	60	322	440
Chien + Fus.....	500	38	1.000	25	63	273	490
Chien + Chien...	500	35	500	25	60	287	334
Thu + Thu.....	500	35	500	25	60	244	230
Thu + Thu.....	500	45	500	24	69	223	226
Thu + Chien	500	41	500	25	66	263	288

Il est difficile de tirer une conclusion de ces résultats. Le nombre de vers trouvés dans le duodénum est généralement inférieur au nombre théorique qui eût été obtenu en infestant deux chiens différents. Quoi qu'il en soit, les souches d'origine canine ne semblent pas prémunir contre les souches d'origine humaine, ni réciproquement.

Essais de vaccination expérimentale préventive et curative. — Nous avons eu l'occasion de signaler que le parasitisme dû à *Ancylostoma caninum* et *Strongyloides stercoralis* ne confère au chien au Tonkin aucune immunité contre une réinfestation, et que chacun de ces deux parasites n'immunise pas non plus contre l'autre. Par ailleurs, il n'y a aucune tendance à la guérison spontanée. Aussi, nous n'avons pu vérifier les affirmations de certains auteurs comme Sandground (1926), Otto et Kerr (1939), qui ont obtenu l'immunité par réinoculation répétée de larves vivantes. Un tel procédé détermine, dans nos expériences, une surinfestation qui devient bientôt incompatible avec la vie. Par contre, le fait que l'infestation spontanée du chien soit exceptionnelle par *Strongyloides stercoralis*, que nous ayons à notre disposition des races locales de ce parasite qui ne donnent aucune immunité et des infections n'ayant aucune tendance à la régression spontanée, nous a incité à étudier les effets de la vaccination préventive et curative. Nos recherches avaient porté également sur *Ancylostoma caninum*. Cependant, tous les chiens dès leur naissance sont infestés spontanément, et il n'est pas possible de les déparasiter complètement. Aussi, nous n'avons pu apprécier que l'action curative de la vaccination qui est nulle.

Nos recherches ont été faites avec deux souches, l'une d'origine canine (A. 1.264) et l'autre humaine (Th. 487). Ces souches sont stables et donnent un nombre fixe et constant de femelles parasites dans l'intestin pour un nombre donné de larves strongyloïdes infestantes.

Vaccination préventive avec larves flariformes de *S. stercoralis* et *A. caninum*

La vaccination a été pratiquée par voie sous-cutanée avec des larves isolées des coprocultures tuées dans l'eau à 90°. L'émulsion est directement injectée après refroidissement, sans centrifugation, ni lavage des larves, afin d'éviter la perte de substances ayant pu diffuser dans le liquide et pouvant exercer une action vaccinante. Les chiens se montrent assez sensibles à l'injection de larves mortes. A la dose de 500.000 larves, les chiens meurent après la deuxième ou la troisième injection. La dose de 100.000 ou 200.000 ne peut être dépassée pour un traitement de longue durée.

On obtient donc par la vaccination préventive des résultats surtout chez les chiens infestés avec une race de parasites d'origine canine. Les effets de la vaccination semblent beaucoup moins marqués dans le cas de la souche d'origine humaine. Les chiens n'ont

VACCINATION PRÉVENTIVE AVEC LARVES TUÉES	LARVES INFESTANTES	DATE DE L'INFESTATION	FIN DE L'EXPÉRIENCE	NOMBRE de femelles retrouvées	TÉMOINS
500.000 larves, 5 inj. tous les 5 j. (S. stercoralis).....	500 l. (souche Chien I) 500 l. (sous la peau) 500 l. (souche Thu.)	25 ^e jour — 30 ^e jour	50 ^e jour — 54 ^e jour	139 289 119	167 372 123
500.000 larves, 5 inj. tous les 5 j (Ancy. caninum).....	500 l. (souche Chien I) 500 l. (souche Thu.)	30 ^e jour 25 ^e jour	58 ^e jour 52 ^e jour	125 115	167 123

rien présenté de particulier au cours de l'infestation. Les courbes d'élimination des larves n'ont pas été modifiées de façon caractéristique. La vaccination préventive ne permet pas non plus au chien de résister à une infestation massive, qui le tue en 15 à 20 jours comme les témoins.

Vaccination préventive et curative avec larves d'Ancylostoma caninum

Six injections de 100.000 larves tous les 5 jours ; 25^e jour : 500 larves infestantes (souche chien I) ; 30^e jour : 4 injections de 100.000 larves tous les 5 jours. Mort 24 jours près, 51^e jour de l'expérience ; 128 femelles trouvées ; témoin : 167 femelles.

Vaccination curative avec larves de Strongyloides stercoralis

LARVES INFESTANTES	LARVES TUÉES	DATE DE VACCINATION	FIN DE L'EXPÉRIENCE	NOMBRE de femelles retrouvées	TÉMOINS
500 (Souche Thu.)....	500.000	15 ^e jour, tous les 5 jours	60 ^e jour	123	127
500 (Souche Chien I)...	—	—	45 ^e jour	154	167
500 (Souche Chien I)...	1.000.000	500.000 les 14 ^e et 26 ^e jours	33 ^e jour	164	167
500 (Souche Thu.)....	2.500.000	14 ^e jour, 5 fois à 10 jours d'intervalle	60 ^e jour	123	127

Il paraît donc que, pour la souche canine, l'action préventive a été plus marquée qu'avec la vaccination avec les larves strongyloïdes. Pour la souche humaine, la différence est négligeable. Et, pourtant, la dose de larves d'ankylostomes employée correspond à une dose double de larves strongyloïdes, étant donné les dimensions respectives de ces deux sortes de larves.

Ainsi, la vaccination curative semble avoir moins d'effets que la vaccination préventive. Les résultats de cette vaccination prolongée après l'infestation sont absolument superposables à ceux obtenus chez le chien vacciné seulement préventivement avec les larves d'*A. caninum* (125 femelles). La vaccination continuée après le début de l'infestation n'a en effet en aucune façon freiné la transformation des larves en vers adultes, ni contribué à réduire le nombre de parasites, ce qui confirme la non efficacité de l'action curative, même lorsqu'elle s'ajoute à la résistance déterminée par la vaccination préventive.

Nous avons également tenté des essais de vaccination avec un broyat de larves, avec des résultats analogues. Nous avions aussi commencé à utiliser des antigènes extraits des larves quand les événements de 1945 ont interrompu ces expériences.

Perte de virulence des souches après vaccination. — Dans une dernière expérience, nous avons cherché à voir si les larves strongyloïdes provenant d'une coproculture d'un chien vacciné perdaient une partie de leur virulence ou pouvoir infestant. Un chien a été infesté sous la peau avec des larves provenant du chien II à la fin de la vaccination. Il a été sacrifié au bout de 25 jours, et l'on a retrouvé 324 parasites dans l'intestin (contre 372 dans les conditions normales). Il y a donc une légère diminution du pouvoir infestant.

(à suivre).

(Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris)

REDESCRIPTION DE *SEURATUM MUCRONATUM* (RUD. 1809)
(*NEMATODA — CUCULLANIDÆ*)

Par Ettore BIOCCA et Alain-G. CHABAUD

Beaucoup de nématodes, étudiés par d'anciens auteurs, ne sont connus que d'une façon très imparfaite ; il est généralement possible de les rattacher à un genre bien défini, mais les descriptions restent insuffisantes pour permettre une diagnose spécifique. Les helminthologistes qui découvrent des espèces du même genre dans des hôtes et des lieux très différents se voient contraints à créer une espèce nouvelle, sans pouvoir en affirmer l'individualité, ni en donner les caractères distinctifs.

Dans le cas qui nous intéresse ici, l'espèce *Seuratum mucronatum* (Rud. 1809) étant très insuffisamment connue, deux espèces nouvelles appartenant au même genre ont été décrites, l'une en Afrique, l'autre en Amérique.

Ayant eu la chance d'étudier un matériel que nous croyons pouvoir rattacher avec certitude à *S. mucronatum*, nous verrons dans cette note que l'individualité des deux espèces décrites ultérieurement ne peut être admise sans l'appui de recherches complémentaires.

Matériel. — Deux mâles, un spécimen entier et deux fragments de femelles matures et quatre femelles juvéniles ont été récoltés dans l'intestin de *Plecotus auritus* (L.), à la Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire), en août 1950. (Collect. Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris).

Description. — Corps cylindrique recouvert d'une cuticule épaisse marquée par de fortes stries transversales espacées de 10 à 30 μ et par des lignes longitudinales régulières, formées de petites épines à pointe postérieure, dont chacune est insérée au milieu d'une interstrie.

Le nombre de files d'épines sur la circonférence du corps, contrairement à ce qu'a constaté Desportes (1947) sur *S. cadarachense*, est assez constant ; il est de 16 chez le mâle, de 24 chez la femelle juvénile.

nile et de 28 chez la femelle adulte. Chez le mâle, les lignes d'épines commencent au niveau de l'anneau nerveux et s'arrêtent brusquement sur la face ventrale à 70-95 μ au-dessus du cloaque ; sur la face dorsale, au contraire, les files d'épines s'estompent progressivement à environ 300 μ au-dessus de la région cloacale. Chez la femelle, les épines commencent également à apparaître dans la région cervicale et disparaissent dans la région anale.

L'ouverture buccale (fig. 1) est triangulaire, mais les angles sont tellement arrondis qu'elle paraît presque ovale. L'extrémité céphalique porte sur le cycle externe huit papilles submédianes accolées deux à deux, mais nettement distinctes. Les amphides sont légèrement antérieures au cycle externe et le cycle interne n'est pas nettement perceptible. La cavité buccale est simple, dépourvue de formations chitineuses et de dents.

Œsophage sombre, légèrement renflé en avant de l'anneau nerveux et dans sa portion la plus postérieure. Anneau nerveux très antérieur. Cellule exérétrice appliquée à la face ventrale de l'œsophage et reliée à la paroi par un canal très fin (fig. 2). Diérides extrêmement petites, impossibles à déceler avec certitude. Champs latéraux bien marqués, mais très étroits dans les deux sexes, ne dépassant pas une largeur de 15 μ .

Femelle. — Toutes les femelles paraissent immatures, sauf un spécimen que nous prendrons comme type, qui est nettement plus grand, atteignant une longueur de 39,5 mm. et une largeur maxima de 600 μ .

Files d'épines longitudinales espacées d'environ 65 μ . Œsophage long de 2.200 μ . Milieu de l'anneau nerveux et pore exériteur respectivement à 330 et à 740 μ de l'apex. Queue assez régulièrement conique et terminée par un petit mueron. L'anus s'ouvre à 690 μ de la pointe caudale sur une surface arrondie et lisse, formée par une lèvre antérieure haute d'environ 30 μ et une lèvre postérieure de 130 μ .

Le corps au niveau de l'orifice vulvaire est toujours marqué par une forte constriction annulaire, située sur ce spécimen à 15 mm. de l'extrémité antérieure (fig. 3). La cuticule porte à environ 100 μ en arrière de la vulve deux paires de grosses papilles submédianes.

Le vagin très court (300 μ) est dirigé vers l'extrémité antérieure. Il se continue par une trompe large, qui se divise au bout de quelques millimètres en deux utérus. Un utérus continue son trajet vers l'extrémité antérieure et le second se courbe rapidement pour gagner l'extrémité postérieure. La disposition des ovaires et des oviductes est comparable à celle qui a été décrite par Desportes

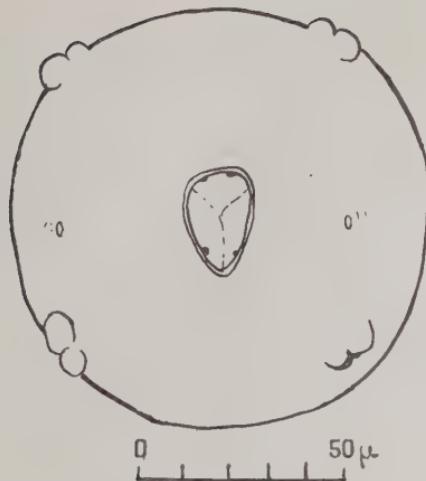


FIG. 1. — Femelle juvénile. Extrémité antérieure, vue apicale.

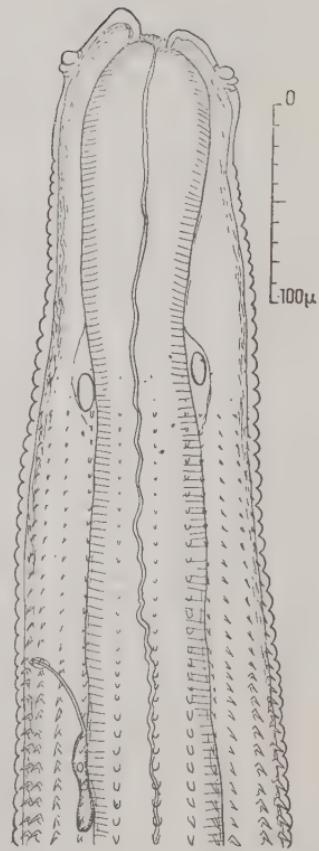


FIG. 2. — Femelle juvénile. Extrémité antérieure, vue latérale.

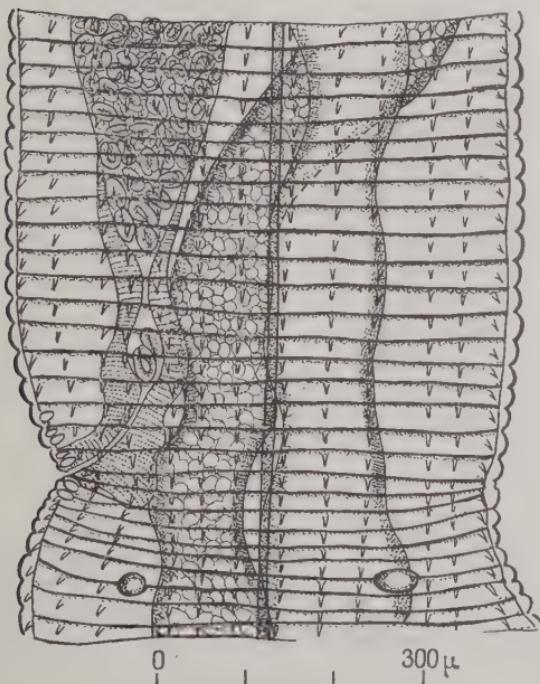


FIG. 3. — Femelle mature. Région vulvaire. Vue latérale. La flèche indique la direction de l'extrémité antérieure.

pour *S. cadarachense*, mais il n'y a pas ici de réceptacle séminal prévulvaire. Les œufs ont une coque mince et souple, qui se laisse déformer par le corps de l'embryon. Ils sont longs de 50-53 μ et larges de 40-47 μ .

Les principales mensurations obtenues sur une femelle juvénile longue de 10,9 mm. sont les suivantes : Œsophage 870 μ . Diamètre maximum 190 μ . Pore excréteur à 350 μ et anneau nerveux à 200 μ de l'extrémité antérieure. Vulve à 4,7 mm. de l'apex. Queue longue de 290 μ . 24 lignes épineuses sur la circonférence du corps.

Le matériel comprend encore un fragment antérieur de femelle dont la distance vulve-apex est de 7 mm., la largeur au niveau de la vulve de 360 μ et dont l'utérus porte des œufs complètement embryonnés. Il faut donc admettre que la taille des femelles est extrêmement variable, ou que la croissance est susceptible de se poursuivre fortement, même après la maturation des œufs.

Male. — Longueur totale 2,8 à 3,65 mm. Chez le mâle mesurant 3,65 mm. qui est pris comme type, on obtient les mensurations suivantes : Largeur maxima 120 μ . Cuticule à interstries espacées de 11 μ . Champs latéraux larges de 10 μ . Anneau nerveux et pore excréteur à 180 et à 290 μ de l'apex. Œsophage long de 460 μ .

La queue courbée ventralement se termine par un mucron long d'environ 10 μ (fig. 4, A, B). Le cloaque s'ouvre à 125 μ de la pointe caudale, dans une zone où la cuticule est ornée d'une dizaine de lignes très irrégulières dont l'orientation prédominante est longitudinale ; ces lignes sont formées d'une suite de petites éminences cuticulaires perlées, plus ou moins allongées dans le sens de la ligne qu'elles forment.

Il existe normalement 20 papilles (6 précloacales, 2 juxtacloacales, 12 postcloacales) et 2 phasmides. Cette disposition est réalisée de façon symétrique sur le mâle long de 2,8 mm. La première paire est isolée antérieurement à l'endroit où se terminent les files d'épines cuticulaires qui couvrent le corps ; les deuxième et troisième paires précloacales et la paire juxtacloacale sont placées à intervalles réguliers et rapprochés ; les paires postcloacales comprennent un premier groupe antérieur, avec une paire disposée sur les mêmes files longitudinales que les précédentes, et une seconde paire plus dorsale ; de la même façon, le second groupe postérieur comprend trois paires rapprochées plus ventrales et une quatrième paire très postérieure, presque dorsale. Les phasmides s'ouvrent sur le versant antérieur et dorsal de la paire la plus antérieure du dernier groupe (quatrième paire à partir de la pointe caudale).

Le mâle long de 3,65 mm. est asymétrique. La disposition précé-

dente est réalisée sur le côté droit, mais le côté gauche porte deux papilles précloacales supplémentaires, situées sur la même ligne longitudinale que les papilles normales.

Les spicules sont fins, égaux et mesurent sur le spécimen-type 95 μ (fig. 4, C). Le gubernaculum, fortement chitinisé, triangulaire en vue médiane, a une hauteur de 85 μ . La portion postérieure paraît renforcée par une épaisseur de chitine supplémentaire. Chez le second mâle, long de 2,8 mm., les spicules et le gorgéret mesurent respectivement 105 et 100 μ .

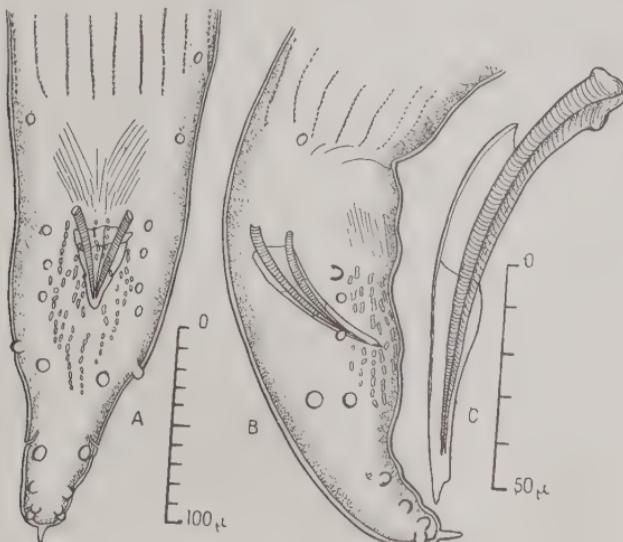


FIG. 4. — Mâle long de 3 mm., 65.
 A. — Extrémité postérieure, vue ventrale.
 B. — Extrémité postérieure, vue latérale.
 C. — Spicules et gubernaculum.

Historique et discussion

Rudolphi a décrit en 1809 sous le nom d'*Ophistomum mucronatum* la femelle d'un nématode, parasite des chauves-souris. (Cet helminthe avait peut-être été récolté précédemment par Goeze et par Zeder, mais il est impossible de savoir s'il s'agissait de la même espèce). La description de Rudolphi est peu précise ; elle indique cependant l'existence de deux lèvres céphaliques, la situation de la vulve au tiers antérieur du corps, une queue mucronée et probablement la présence de files d'épines : « *Cutis marginis crenulati, subincisi* ».

Dujardin (1845) a reçu des nématodes qui lui ont paru se rattacher à cette espèce, mais les a perdus avant de pouvoir les étudier. Kolenati (1856), le premier, dit un mot à propos du mâle : « Das Endglied des Männchens gerade und konisch » ; sa brève description n'apporte aucun détail valable. Une étude ultérieure de Van Beneden (1873), grâce à son abondante illustration, fait connaître quelques éléments plus précis, concernant notamment la forme de l'œsophage et les spicules du mâle. La longueur totale de la femelle (15 mm.) reste compatible avec notre espèce, car nous avons signalé plus haut la présence d'un fragment de femelle parfaitement mature dont la longueur totale ne dépasse probablement pas 22 mm. La taille donnée pour les œufs (0,24 mm.) est certainement un lapsus et nous ne pouvons pas en tenir compte. Les spécimens de Van Beneden appartiennent donc peut-être à la même espèce que celle qui est décrite ici, mais il est impossible de l'affirmer avec certitude car la description reste trop imprécise ; il n'existe pas la moindre mensuration concernant le mâle et l'échelle des figures n'est pas indiquée ; il est cependant très surprenant que l'auteur n'ait pas vu les séries longitudinales d'épines qui sont facilement discernables à un faible grossissement. En 1902, O. von Linstow, qui ne possède qu'un seul exemplaire femelle, présente une figure du corps vu en coupe, mais ne signale pas non plus de files d'épines longitudinales.

Depuis cette date, personne ne paraît avoir étudié à nouveau la même espèce. Seurat (1915) a su faire le rapprochement avec un parasite du Gundu, et Hall (1916) a créé pour eux le nouveau genre *Seuratum*.

La coexistence de deux espèces distinctes de *Seuratum* chez les Chéiroptères d'Europe reste donc possible ; nous croyons cependant que les lignes longitudinales, peut-être moins développées chez certains spécimens, ont échappé à quelques auteurs et qu'il n'existe en réalité qu'une seule espèce.

Quoiqu'il en soit, la description originale de Rudolphi semble bien faire mention d'épines longitudinales, l'hôte et la localité géographique correspondant parfaitement à notre matériel ; nous nous croyons donc autorisés à employer le nom de *S. mucronatum*.

A côté de *S. mucronatum*, quatre autres espèces ont été décrites et forment deux groupes bien différents :

1° *S. tacapense* (Seurat 1915), parasite de *Ctenodactylus gundi* Pallas et de *Zorilla lybica* Hempr. et Ehr., et *S. cadarachense* Desportes 1947, parasite d'*Eliomys quercinus* (L.), s'opposent aux parasites de Chéiroptères par les caractères suivants : ils sont pourvus d'un appareil buccal légèrement chitinisé ; les mâles sont de grande

taille, avec des spicules égaux ou plus grands que 140 μ ; chez la femelle, la vulve est relativement postérieure et les files longitudinales d'épines sont nombreuses et rapprochées. *S. catarachense* se distingue de *S. tacapense* par la présence d'un réceptacle séminal prévulvaire chez la femelle, et par la plus grande taille des spicules chez le mâle.

2^e Le second groupe comprend trois espèces parasites de Chéiropières, dont la diagnose apparaît maintenant très difficile. *S. congolense* Sandground 1937, parasite de *Pipistrellus nanus* (Peters) et de *Myotis bocagei* (Peters), en Afrique, pourrait se distinguer de *S. mucronatum* par l'extrémité postérieure du mâle. L'auteur ne signale et ne figure pas la paire de papilles la plus latérale dans le premier groupe postanal ; en outre, l'arrêt brusque des lignes d'épines sur la face ventrale n'est pas remarqué : « The longitudinal rows of cuticular spines converge towards the cloaca. » Il est possible que ces caractères aient une valeur spécifique ; malheureusement, Sandground, ne possédant qu'un seul spécimen mâle, n'a pas pu l'orienter en vue ventrale et certains détails ont pu lui échapper. L'individualité de *S. congolense* reste donc actuellement douteuse.

S. cancellatum B. G. Chitwood (1938), parasite des poumons de *Natalus mexicanus* Miller, en Amérique, n'est connu que par le mâle et n'a pas été comparé à *S. congolense*, car la publication de Sandground était trop récente. La disposition des papilles caudales du mâle est identique à celle de *S. mucronatum*. Les dimensions sont plus faibles dans leur ensemble, mais, le spécimen étant nettement plus petit (2 mm.), ces différences ne pourraient opposer que des variétés. Deux caractères seulement peuvent être invoqués : d'une part, un cycle interne de six papilles réduites autour de la bouche chez *S. cancellatum*, que nous n'avons pas retrouvé nettement chez *S. mucronatum* ; d'autre part, la présence d'ornements cuticulaires dans la région cloacale du mâle n'est pas mentionnée, ni figurée pour *S. cancellatum*. Ces différences sont très minimes et il semble que l'isolement de *S. cancellatum* ne pourra être affirmé que lorsque l'examen d'un matériel abondant aura montré la constance de ces caractères.

RÉSUMÉ

Etude morphologique et bibliographique de *Seuratum mucronatum* (Rud. 1809). La discrimination, avec les deux espèces décrites par des auteurs modernes (*S. congolense* Sandground 1937 et *S. cancellatum* Chitwood 1938), se révèle très difficile. L'existence de trois

espèces distinctes chez les Chéiroptères ne pourrait être admise avec certitude que si des recherches complémentaires montraient la constance de certains caractères peu apparents.

BIBLIOGRAPHIE

CHITWOOD (B. G.). — Some nematodes from the caves of Yucatan. *Carnegie Inst. Washington Publ.*, 491, 1938, 51-66, fig. 1-45.

DESPORTES (C.). — Sur les caractères spécifiques d'une nouvelle espèce de *Cucullanidæ*, *Seuratum cadarachense*, n. sp., de l'intestin du Lérot (*Eliomys quercinus* L.). *Ann. Parasit.*, XXII, 1947, 42-52, fig. 1-2.

DUJARDIN (F.). — *Histoire naturelle des helminthes ou vers intestinaux*, 1845, xvi + 654 + 15 pp., 12 pl.

HALL (M. C.). — Nematode parasites of mammals of the orders *Rodentia*, *Lagomorpha* and *Hyraeoidea*. *Proc. U. S. Nat. Mus.* (2131), XL, 1916, 258 p., 1 pl., fig. 1-290.

KOLENATI (F. A.). — *Die Parasiten der Chiroptern. Den Naturforschern und Aerzten der 32 Versammlung*. Brünn, 1856, 51 p.

LINSTOW (O. von). — Beobachtungen an neuen und bekannten Nemathelminthen. *Arch. Mikr. Anat.*, LX, 1902, 217-232, pl. XIII.

RUDOLPHI (C. A.). — *Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis*, II, 457 p., pl. 7-12.

SANDGROUND (J. H.). — Three new parasitic nematodes from the Belgian Congo. *Rev. Zool. Bot. Afric.*, XXIX, 1937, 232-235, fig. 1-7.

SEURAT (L. G.). — Sur un nouvel *Ophiostomum* parasite du Gundi. *C. R. Soc. Biol.*, LXXVIII, 1915, p. 20-22, fig. 1-4.

VAN BENEDEEN (P. J.). — Les parasites de chauves-souris de Belgique. *Mém. Acad. Roy. Sc. Belg.*, XL, 1873, 1-42, pl. I-VII.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Rome
(*Directeur : Prof. E. Biocca*)

et Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(*Directeur : Prof. H. Galliard*).

L'HABITAT DES STADES PRÉIMAGINAUX DE *SIMULIUM NEAVEI* ET DE *SIMULIUM RENAUXI*

Par M. WANSON et K. HOLEMANS

Connue au Kenya, au Tanganyika et au Nyassaland, dans des régions de haute altitude, l'espèce *S. neavei* présente de l'intérêt parce qu'elle occupe une place importante en parasitologie humaine en Afrique Orientale et Centrale.

C'est Dry (1) qui soupçonna le premier, dès 1922, le rapport de *S. neavei* avec une maladie cutanée des indigènes du Kenya. Ceux-ci rendaient la mouche responsable de la maladie, qui, d'après eux, était en relation avec l'affaiblissement de la vue et même la cécité dont certains d'entre eux étaient atteints.

Cette espèce fut observée pour la première fois, en 1932, au Congo belge, à Yabena, près du confluent de l'Elipa et du Lomami, par J. Schwetz qui pressentit le rôle de vocation de cette simulie dans l'onchocercose.

En 1934, J. Bequaert établit qu'elle existe également dans le district du Lubilash-Sankuru, et Strong, Hissette, Sandground et Bequaert signalent que, pour le foyer du Sankuru, *Simulium neavei* est le principal, sinon l'unique vecteur de l'onchocercose. Ils signalèrent surtout entre Lusambo et Lubefu un taux d'infestation de 33,3 p. 100 chez ce *Simulium*. Ce pourcentage, ainsi que l'a fait remarquer L. van den Berghe, est évidemment global et se rapporte à des embryons dermiques et à des formes à divers stades d'évolution. Sa valeur est le double de celle trouvée chez *S. damnosum* dans divers foyers congolais. A proximité des gîtes larvaires, les femelles de *S. damnosum* hébergent des larves infectieuses d'*O. volvulus* dans la proportion de 2,9 p. 100 et des larves thoraciques encore évolutives dans celle de 13,30 p. 100, soit une infectivité totale de 16,20 p. 100.

Pendant plus de vingt-cinq années, les lieux d'évolution larvaire de *S. neavei* échappèrent, dans tous les pays où l'adulte abonde, aux recherches faites par des spécialistes. Jusqu'en 1950, le gîte larvaire

de ce *Simulium* était encore un mystère et les investigations les plus minutieuses menées dans les territoires de l'Est Africain britannique ne réussirent pas à mettre en évidence les œufs, les larves et les pupes. Cependant, par l'éradication de l'adulte obtenue par application de D.D.T. dans les cours d'eau, Garnham et Mac-Mahon (4) serrèrent de très près le problème en apportant la preuve que les lieux de reproduction de la simulie se situaient dans les ruisseaux et rivières rapides du Kenya. Ainsi, sans réussir à découvrir la phase larvaire et la phase pupale, ces auteurs obtinrent l'extinction durable de la simulie adulte dans les régions traitées.

Les choses en étaient là lorsque le Dr Géukens étudia, à l'altitude de 800 mètres, un foyer d'onchocercose à taux d'infestation humaine élevé qu'il découvrit au Kwango, sur la Haute-Inzia, dans la zone d'action du Foreami (5). Très voisine de *S. neavei*, dont elle se distingue par la finesse et la teinte argentée de l'écaillure et aussi par la teinte noire et l'hypertrophie considérable des fémurs et tibias, la simulie rencontrée dans ce foyer fut décrite par nous sous le nom de *S. renauxi* (10, 11).

Les recherches pratiquées par le Dr Geukens ont montré que l'endémie atteint 100 p. 100 de la population adulte, cependant que le pourcentage de la complication oculaire ne dépasse pas 1 p. 100. Vers le Nord, à l'embouchure de l'Inzia, *S. damnosum* et *S. albivirgulatum* sont les seules simulies trouvées par A. Fain, et la proportion filariée de la population adulte s'abaisse à 30 p. 100 (3).

Le taux d'infestation naturelle de *S. renauxi* n'a pu encore être établi de manière précise, mais la certitude de son intervention dans le cycle évolutif d'*O. volvulus* est fournie par la découverte de larves appartenant à ce nématode en évolution dans l'organisme d'un petit nombre de femelles, récoltées sur l'homme, dans le territoire de Feshi. Pratiquée par nous, la dissection de trente femelles conservées en alcool a montré que quinze d'entre elles renfermaient des formes « saucisses » dans la musculature thoracique, tandis que trois femelles hébergeaient des larves infectieuses dans la trompe et la tête. *S. renauxi* apparaît ainsi comme troisième espèce vectrice d'onchocercose au Congo, à côté de *S. damnosum* et de *S. neavei*.

Comme dans le cas de *S. neavei*, tous les efforts déployés en vue de découvrir les stades préimaginaux de *S. renauxi* sont demeurés infructueux durant plusieurs mois dans les cours d'eau de la région de la Haute-Inzia, où les femelles se trouvent en grand nombre. Les recherches avaient porté sur les classiques supports de fixation utilisés par les larves et les pupes : pierres, branches mortes, feuilles et tiges d'herbes des plantes aquatiques, vieilles ferrailles, débris de bois, etc..., dans l'eau vive. Seuls, *S. damnosum* et *S. johannae* furent élevés de pupes prélevées dans un ruisseau de forêt.

Nous savions qu'Edwards avait rapporté en 1928 un fait extraordinaire pour l'espèce africaine *S. hirsutum* Pomeroy. En Uganda, larves et pupes de cette espèce, non agressive pour l'homme, furent trouvées attachées à un crabe d'eau douce, *Potamon niloticum* (2).

Nous-mêmes avons trouvé des larves et des pupes de *S. damnosum* fixées sur une autre espèce de crabe dulcaquicole, *Potamonautes vandenbrandi*, dans les rapides en aval du Stanley Pool, à Léopoldville. Mais de telles observations sont tout à fait exceptionnelles à Léopoldville, et la fixation épizoïque de *S. damnosum* sur des malacostracés d'eau douce est un phénomène de faible importance.

Entrepris sur nos indications, l'examen des crabes, qui peuplent les ruisseaux, révéla au D^r Holemans, qui a bien voulu se charger de la conduite de cette recherche, le curieux habitat des larves de *S. renauxi*. L'association qui existe entre ces larves et les crabes d'eau douce de l'espèce *Potamonautes lueboensis* fut mise en évidence au Kwango en juin et juillet 1950. Au mois d'août de la même année, van Someren et MacMahon (9) publiaient leur découverte faite au Kenya, des stades préimaginaux de *S. neavei* fixés sur les crabes d'eau douce. Petit à petit, le mystère qui entourait les phases préimaginales de *S. neavei* se dissipait.

Dans le territoire de Feshi, les cours d'eau qui servent d'habitat à *S. renauxi* sont de petits ruisseaux encaissés et fortement boisés, à fond rocheux et courant vif entrecoupé de petites cascades d'une hauteur de 10 à 20 centimètres ou interrompu par des bancs pierreux faisant saillie au-dessus du niveau de l'eau. L'eau propre et claire est vive ; elle coule sur un lit rocheux irrégulier. Elle est fortement aérée par agitation mécanique.

On récolte les crabes en abondance dans l'eau écumeuse ; la moitié d'entre eux sont porteurs de larves, pupes ou de cocons vides. Leur capture est aisée. Les crabes ferment leurs pinces sur un bâton et celui-ci est retiré de l'eau aussitôt que le crabe s'y est solidement appendu.

Les crabes portent larves et pupes sur la face ventrale, fixés sur la carapace au-dessus de l'insertion des pattes ambulatoires. Les larves s'attachent aussi, mais toujours par individu isolé au fond de la logette du pédoneule oculaire. Mais la pupaison est observée avec le plus de fréquence sur le premier article des pinces, ainsi qu'à la face antéro-interne ou au bord inférieur des premiers et seconds articles des pattes locomotrices.

Le nombre moyen de larves et de pupes n'est jamais très élevé : 3 à 10 pour les formes juvéniles, 10 à 25 chez les adultes. Dix larves pour un crabe s'observent avec constance pour un maximum de trois pupes. Parvenue à maturité, la nymphe de *Simulium* présente

une teinte très foncée et renferme l'adulte prêt à éclore. L'expérience a montré qu'il faut examiner cinq crustacés parasites pour rencontrer une pupe noire et bien mûre. Après identification par l'examen des filaments branchiaux, les fragments de patte ou de carapace supportant les pupes mûres sont disposés à sec dans des tubes de verre bouchés d'ouate.

Utilisé à l'égard des espèces fixées sur supports végétaux, ce procédé simple, signalé par Brumpt dès 1904, permet d'obtenir en quelques heures l'éclosion d'un bon nombre de simulies adultes. L'élevage de *S. renauxi* est sans doute plus délicat que celui des autres simulies. Toujours est-il qu'il est bien rarement couronné de succès. Il a fallu le plus souvent isoler les adultes mâles et femelles du cocon par la dissection.

L'appareil respiratoire de la pupe de *S. renauxi* comporte huit longs filaments issus de trois trones principaux, selon la formule 2-3-3, de texture microscopique très proche de celle de *S. alcocki*.

L'association entre *Potamonautes lueboensis* et *Simulium renauxi* coïncide étroitement avec la distribution de cette simulie dans le foyer d'onchocercose de la Haute-Inzia. Ce malacostracé décapode est connu uniquement jusqu'à présent, et selon Balss, du bassin de la rivière Kasai et de ses tributaires Kwango, Sankuru, Lulua, Kwilu, Inzia, etc...

Pour ces simulies épizoïques, le substrat n'est point spécifique comme le laisse supposer le fait que la distribution géographique de *S. renauxi* excède celle de *Potamonautes lueboensis*. Un crabe ayant des habitudes à peu près semblables, *Potamonautes lirranguensis*, au Lomami, vient d'être trouvé tout récemment à Yabena, portant attachés sur lui les larves et les pupes de *S. renauxi*.

De tous ces faits, il faut conclure à l'écologie identique de *S. neavei* et de *S. renauxi*, écologie tout entière dominée par l'extraordinaire phorésie des stades préimaginaux dans laquelle interviennent des crabes d'eau douce. Partout, l'habitat des crustacés est typique. Ce sont des ruisseaux encaissés et fortement boisés, aux endroits où les eaux sont agitées ou écumeuses sur fond rocheux.

S. renauxi et *S. neavei* sont-ils synonymes ? Il faut reconnaître que la position de *S. neavei* dans la systématique des simulies africaines est obscure (*) et qu'il n'est pas encore possible de trancher

(*) Cette espèce fut décrite successivement par Roubaud (1915), Gibbins (1936) et Grenier (1950). Par ailleurs, d'autres espèces sont tombées en synonymie avec elle ; ce sont *S. vorax* (d'après Gibbins, 1938) et *S. nyassalandicum*, de Meillon, 1930 (d'après Bequaert, 1938). Dans le groupe des simulies aux tarses à griffes simples, diverses espèces doivent encore être soumises à révision complète.

avec certitude cette question bien embrouillée. Si la morphologie des pupes du mâle et de la femelle a été décrite à peu près complètement pour *S. renauxi*, le mâle de *S. neavei* n'a pas fait l'objet de description, de même que les stades nymphaux de cette espèce. Au début de 1950, P. Grenier (6) pensait pouvoir rattacher à *S. neavei* deux nymphes à dix filaments respiratoires récoltées par G. Marlier, en juin 1949, près d'Uvira. Mais, en réalité, les caractères anatomiques décrits et figurés par Grenier, à partir de spécimens extraits de nymphes à dix filaments respiratoires, ne semblent pas appartenir à *S. neavei*, mais bien à une espèce nouvelle de la province du Kivu, laquelle fixe ses premiers stades sur des supports végétaux ou inanimés.

S. renauxi se distingue nettement de la simulie décrite par Grenier et pour laquelle l'auteur lui-même laissait subsister un léger doute quant à l'identité précise en écrivant : « Il est très peu probable que l'espèce obtenue à partir de la nymphe à dix filaments respiratoires ne soit pas *S. neavei*. »

A dire vrai, les femelles de *S. renauxi* ressemblent de manière si remarquable à celles de *S. neavei* qu'elles peuvent être aisément confondues avec ces dernières au premier regard. De faibles différences les séparent morphologiquement.

L'argument biologique ne peut guère séparer les deux espèces avec plus de certitude. Il repose sur l'altitude requise par l'association observée entre *S. neavei* et certaines espèces de crabes d'eau douce. Très élevée au Kenya (1.200 à 2.500 mètres), l'altitude est beaucoup plus réduite dans les régions congolaises, dans lesquelles l'association *S. renauxi* et *Potamonantes* fut rencontrée jusqu'à présent (Kwango, Kasai, Lomami). Elle ne dépassait pas 800 mètres dans ces régions.

Nous exprimons notre vive gratitude au Dr Dricot, Directeur du Foreami, qui nous a accordé toute facilité pour conduire ce travail à bonne fin.

C'est à l'amabilité de M. E. Darteville, Conservateur au Musée du Congo Belge, à Tervueren, que nous sommes redevables de l'identification de nos crustacés. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos vifs remerciements.

RÉSUMÉ

Au Congo belge, les phases larvaire et pupale de *S. renauxi* se fixent électivement sur des crustacés d'eau douce. Cette fixation épizoïque est à présent connue pour deux espèces de malacostracés

décapodes, *Potamonautes lueboensis* du bassin du Kasai et *Potamonautes lirrangensis* du Lomami.

S. renauxi est vectrice d'*O. volvulus* ; elle peut être une simple variété de *S. neavei*, qui attache aussi sa descendance larvaire sur des crustacés d'eau douce au Kenya.

BIBLIOGRAPHIE

1. DRY. — Trypanosomiasis in the absence of tssetses, and a human disease possibly carried by *Simulium* in Kenya Colony. *Bull. Ent. Res.*, T. XII, 1922, p. 233.
2. EDWARDS (F. W.). — *Simulium* larvæ and pupæ found on a crab. *Entomologist*, T. LXI, 1928, p. 42.
3. FAÏN (A.). — Répartition et étude anatomo-clinique de filariose humaines dans le territoire de Banningville (Congo belge). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, XXVII, 1947, n° 1, pp. 25-63.
4. GARNHAM (P. C.) et McMAHON (T. P.). — Eradication of *Simulium neavei* Roubaud from Onchocerciasis area in Kenya Colony. *Bull. Ent. Res.*, T. XXXVII, 1947, p. 619-628.
5. GEUKENS. — Contribution à l'étude des filaires dans le territoire de Feshi. *Ann. Soc. Belge de Méd. Trop.*, 1950 (à paraître).
6. GRENIER (P.). — Simuliidae de l'Est congolais (description des nymphes et imagos mâles et femelles de *S. neavei* Roubaud ?) et *S. marlieri*, n. sp. *Bull. Soc. Path. Exot.*, T. XLIII, 1950, pp. 92-100.
7. SCHWETZ (J.). — Notes géographiques d'entomologie médicale sur la Province Orientale (Congo belge). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, T. XII, 1932, n° 4, p. 7.
8. STRONG (R. P.), HISSETTE (J.), SANDGROUND (J. H.) et BEQUAERT (J. C.). — Onchocerciasis in Africa and Central America. *Am. Jl. Trop. Med.*, Vol. XVIII, 1938, Suppl. n° 1.
9. VAN SOMEREN (V. D.) et McMAHON. — Phoretic association between *Afronurus* et *Simulium* species and the discovery of the early stages of *Simulium neavei* on freshwater crabs. *Nature*, T. CLXVI, n° 4217, 26 August, 1950, pp. 350-1.
10. WANSON (M.) et LEBIED (B.). — Un *Simulium* nouveau du Kwango, *Simulium renauxi*, nova species. *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 1950 (sous presse).
11. WANSON (M.) et LEBIED (B.). — L'habitat larvaire de *S. renauxi* Wanson et Lebied (Description de la pupe et du terminalia du mâle). *Rev. Zool. Bot. Afric.*, 1950 (sous presse).
12. WANSON (M.) et MILLECAMPS (A.). — Note sur les simulies d'Elisabethville. *Rec. Trav. Sc. Méd. au Congo belge*, 1946, n° 5, p. 248.

(Laboratoire du Service d'Hygiène de Léopoldville
et Institut de Médecine tropicale Prince-Léopold, à Anvers)

LES PHLÉBOTOMES AMÉRICAINS

CLEF D'IDENTIFICATION DE 97 FEMELLES CONNUES (*)

Par H. FLOCH et E. ABONNENC

1. — Aile avec la nervure transversale médiane loin de la base et très rapprochée de la première bifurcation de la 2^e longitudinale (R^{2+3+4}), ce qui donne un très petit gamma — genre *Warileya* (**)..... *W. phlebotomanica* Hertig, 1942 (Pl. VII, fig. 95).
— Aile avec la nervure transversale médiane près de la base et loin de la première bifurcation de la 2^e longitudinale (R^{2+3+4}), ce qui donne un gamma relativement grand — genre *Phlebotomus*.. 2
2. — Fémurs postérieurs armés d'épines ou de denticules plus ou moins développés 2^{bis}
— Fémurs postérieurs inermes 6
- 2^{bis} — Fémurs postérieurs présentant, sur la moitié proximale de la face interne, une rangée de 3 à 7 soies dont les bases d'insertion portent une épine 3
— Fémurs postérieurs présentant, sur la moitié de la face interne, une rangée de 13 fortes soies épineuses, courtes, spermathèques annelées du type *brumpti-travassosi*.....
..... **P. spinosipes** Floch et Abonnenc, 1943 (Pl. I, fig. 3).
3. — Pédoncule du corps de la spermathèque à parois épaisses, chitinisées, faisant suite à un conduit commun, sans conduit individuel

(*) Les espèces rencontrées en Guyane ou aux Antilles françaises sont indiquées en caractères gras.

(**) G. B. Fairchild (*Proc. Ent. Soc. Wash.*, Vol. LI, n° 2, 1949) a décrit, sous le nom de *Hertigia herligi* (nouveau genre), une espèce qui appartiendrait à la sous-famille des *Phlebotominae*. Seul le mâle a été décrit, il présente un proboscis très développé et des maxilles dentés, ce qui fait suggérer à l'auteur que la femelle peut être hématophage.

La femelle n'étant pas connue, nous n'avons pas cru devoir faire figurer cette espèce dans notre clef, comme nous l'avons fait pour la seule connue du genre *Warileya*.

Le genre *Hertigia* peut aisément être séparé des genres *Phlebotomus* et *Warileya* par les caractères alaires suivants très marqués : ailes avec la nervure transverse médiane loin de la base, tandis que la première bifurcation de la 2^e longitudinale (R^{2+3+4}) en est relativement rapprochée, ce qui donne un gamma négatif.

duel ou par l'intermédiaire d'un conduit à peine ébauché ; longueur du conduit commun comparable à celle du pédoncule de la spermathèque.....	<i>P. damascenoi</i> Mangabeira, 1941 (Pl. I, fig. 1).
— Pédoncule du corps de la spermathèque séparé du conduit commun par un conduit individuel membraneux nettement marqué	4
4. — Longueur totale des palpes supérieure à 800 μ ; armature buccale constituée par 4 longues et fortes dents horizontales subégales, dirigées vers l'arrière, dont l'extrémité atteint ou dépasse le bord postérieur de la cavité, et plus en avant par une petite couronne de dents verticales	5
— Longueur totale des palpes inférieure à 700 μ ; armature buccale constituée par une frange de nombreuses dents courtes, horizontales, irrégulières, dont les centrales sont légèrement plus fortes et plus longues que les latérales, et, parmi ces dernières, une vingtaine de petites dents verticales réparties régulièrement.....	
..... P. spinosus Floch et Abonnenc, 1942 (Pl. I, fig. 2).	
5. — Corps de la spermathèque globuleux, de 18 à 24 μ de long pour 16 μ de large, souvent séparé du pédoncule par une ligne de démarcation ; pédoncule fortement chitinisé.....	
..... <i>P. pessoai</i> Coutinho et Barreto, 1941 (Pl. I, fig. 4).	
— Corps de la spermathèque presque cylindrique, de 29-32 μ de long pour 18-24 μ de large, non séparé du pédoncule, qui n'est pas chitinisé, par une ligne de démarcation.....	
..... <i>P. fischeri</i> Pinto, 1926 (Pl. I, fig. 5).	
6. — 5 ^e segment des palpes plus long que le 3 ^e	22
— 5 ^e segment des palpes plus court que le 3 ^e	7
7. — Palpes avec le III ^e article plus long que IV + V ; articles II + III habituellement égaux aux doubles de IV + V ; segments de la spermathèque imbriqués	8
— Palpes avec le III ^e article plus court que IV + V ; articles II + III plus courts que le double de IV + V ; corps de la spermathèque annelé ou lisse	13
8. — Segments des palpes II + III plus de 3 fois aussi longs que IV + V, conduits individuels plus courts que le corps de la spermathèque... P. sp. n^o 780 Floch et Chassagnet, 1948 (Pl. I, fig. 9).	
— Segments des palpes II + III plus de 3 fois aussi longs que IV + V, conduits individuels 2 fois et demie aussi longs que le corps de la spermathèque.....	
..... P. squamiventris Lutz et Neiva, 1912 (Pl. I, fig. 10).	
— Segments des palpes II + III moins de 3 fois aussi longs que IV + V	9

9. — Conduits individuels de la spermathèque 2 fois aussi longs que le corps qui a 5 anneaux.....
 **P. ayrozai** Barreto et Coutinho, 1940 (Pl. I, fig. 8).

— Conduits individuels de la spermathèque plus de 2 fois aussi longs que le corps qui est composé de 8 segments 10

— Conduits individuels de la spermathèque plus courts que le corps 11

10. — Palpes d'environ 500 μ de long.....
 **P. chagasi** Costa Lima, 1941 (Pl. I, fig. 7).

— Palpes d'environ 650 μ de long ; longueur du conduit commun plus de 4 fois celle de la spermathèque.....
 **P. guyanensis** Floch et Abonnenc, 1941 (Pl. I, fig. 6).

11. — Segments des palpes II + III ayant approximativement la longueur du double de IV + V ; corps de la spermathèque composé de 9 anneaux ; cavité buccale munie de 2 paires de dents horizontales et d'une double rangée de fortes dents médianes ventrales, pas de plage pigmentée..... **P. davisi** Root, 1934 (Pl. I, fig. 11).

— Segments des palpes II + III distinctement plus longs que le double de IV + V 12

12. — Cavité buccale avec 4 paires de dents horizontales ; dernier anneau de la spermathèque symétrique.....
 **P. arthuri** Fonseca, 1936 (Pl. I, fig. 12).

— Cavité buccale avec 3 paires de dents horizontales ; corps de la spermathèque composé d'environ 10 anneaux, dont le dernier est asymétrique..... **P. lloydii** Antunes, 1937 (Pl. I, fig. 13).

— Cavité buccale avec 2 paires de dents horizontales et une double rangée de fortes dents médianes ventrales ; plage pigmentée présente ; corps de la spermathèque composé de 12 anneaux environ **P. panamensis** Shannon, 1926 (Pl. I, fig. 14).

— Cavité buccale avec 2 paires de dents horizontales ; toutes les dents ventrales petites ; pas de plage pigmentée ; corps de la spermathèque avec environ 9 anneaux.....
 **P. amazonensis** Root, 1934 (Pl. II, fig. 15).

13. — Spermathèque de très petites dimensions n'ayant pas plus de 60 μ (corps et conduits), toujours accompagnée d'une gaine chitineuse 14

— Spermathèque bien développée (au moins 120 μ de long, corps et conduits), non accompagnée d'une gaine chitineuse..... 15

14. — Corps de la spermathèque piriforme, émergeant d'une gaine chitineuse à peu près cylindrique.....
 **P. arborealis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. II, fig. 16).

— Corps de la spermathèque en massue grêle, enfermée avec son conduit dans une gaine chitineuse conique.....

.....	P. sp. x. Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. II, fig. 17).
15. --	Conduits individuels et conduit commun de la spermathèque nettement striés transversalement.....
 P. anduzei Rozeboom, 1942 (Pl. II, fig. 19).
—	Conduits individuels et conduit commun de la spermathèque non striés, lisses ou portant de petites saillies tuberculeuses....
16.	16
--	Spermathèques présentant un conduit commun bien développé
	17
--	Spermathèques sans conduit commun, les conduits individuels aboutissant directement à l'orifice génital
18.	20
--	Conduit commun relativement long, plus de trois fois aussi long que les conduits individuels ; corps de la spermathèque composé de 8 à 9 anneaux.....
 P. machicouensis Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. II, fig. 20).
—	Conduit commun moins de deux fois aussi long que les conduits individuels, parfois plus court que ces derniers
19.	18
—	Corps de la spermathèque composé de 20-24 anneaux dont le terminal est très renflé.....
 P. cauchensis Floch et Abonnenc, 1943 (Pl. II, fig. 26).
—	Corps de la spermathèque composé de 12 anneaux au maximum, le dernier n'étant pas manifestement renflé.....
20.	19
—	Corps de la spermathèque composé de 7 anneaux ; rapport : conduit individuel
	— conduit commun = 1,2
 P. sp. de Souvenir Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. II, fig. 21).
—	Corps composé de 10 anneaux; rapport: $\frac{\text{conduit individuel}}{\text{conduit commun}} = 0,68$
 P. apicalis Floch et Abonnenc, 1943 (Pl. II, fig. 22).
21.	21
—	Conduits individuels très longs (600 μ) ; corps composé d'une trentaine de segments dont le terminal, très long et renflé, occupe presque tout le tiers distal du corps.....
 P. ininii Floch et Abonnenc, 1943 (Pl. II, fig. 23).
—	Conduit individuel ayant moins de 400 μ de longueur ; corps composé d'une vingtaine de segments dont le terminal est à peine plus développé que les autres
22.	21
—	Le corps de la spermathèque a les segments basaux de même largeur que le conduit individuel qui est au moins 5 fois aussi long que le corps
 P. whitmani Antunes et Coutinho, 1939 (Pl. II, fig. 24).

— Le corps de la spermathèque a les segments basaux plus larges que le conduit individuel qui n'est pas plus de 3 fois et demie aussi long que le corps.....
..... **P. intermedius** Lutz et Neiva, 1912 (Pl. II, fig. 25).

22. — Corps de la spermathèque terminé par une énorme expansion globuleuse qui enveloppe la tête et la déplace latéralement. Cette expansion représente environ 5 fois le volume du corps de la spermathèque

..... **P. vesiciferus** Fairchild et Hertig, 1947 (Pl. III, fig. 27) ;
..... **P. deleoni** Fairchild et Hertig, 1947 (Pl. III, fig. 28) ;
..... **P. anthophorus** Addis, 1945 (Pl. II, fig. 18).

— Corps de la spermathèque non terminé par une énorme expansion globuleuse

23. — Corps de la spermathèque, non compris le bouton terminal (tête), au moins 5 fois aussi long que sa largeur maximum

— Corps de la spermathèque, non compris le bouton terminal (tête), plus de 3 fois, mais moins de 5 fois, aussi long que sa largeur maximum

— Corps de la spermathèque, non compris le bouton terminal (tête), au moins 2 fois, mais pas plus de 3 fois, aussi long que sa largeur maximum

— Corps de la spermathèque, non compris le bouton terminal (tête), au moins aussi long que sa largeur maximum, mais pas plus d'une fois et demie cette largeur

— Corps de la spermathèque, non compris le bouton terminal (tête), plus large que long

24. — Corps de la spermathèque spiralé (3-4 spires irrégulières) ; conduits individuels longs de 415 μ environ ; pas de conduit commun..... **P. aragaoi** Costa Lima, 1932 (Pl. III, fig. 29).

— Corps de la spermathèque annelé

— Corps de la spermathèque lisse

25. — Conduits individuels aussi larges que le corps de la spermathèque (en leur largeur maximum) et 8 à 9 fois plus longs que celui-ci ; V^e segment des palpes plus court que les segments II + III.....
..... **P. fluvialis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. IV, fig. 46).

— Conduits individuels très étroits et pas plus de 2 fois aussi longs que le corps de la spermathèque ; V^e segment des palpes plus long que les segments II + III + IV.....
..... **P. sp. de Saül** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. III, fig. 30).

— V^e segment des palpes à peine plus long que le III^e ; spermathèques de 12-14 anneaux ; épines géniculées avec prolongements postérieurs très longs, dépassant l'articulation sous-jacente.....
..... **P. driesbachi** Causey et Damasceno, 1944 (Pl. III, fig. 31).

26. — Corps de la spermathèque recourbé en forme de faux, présentant un bourrelet bien marqué à sa jonction avec le conduit individuel; pas de conduit commun.....
 **P. falciformis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. III, fig. 32).

— Corps de la spermathèque non falciforme, faisant suite au conduit individuel sans démarcation brusque 27

27. — Corps de la spermathèque 10 fois aussi long que sa largeur maximum, se rétrécissant graduellement de l'apex à la base.....
 **P. migonei** França, 1920 (Pl. III, fig. 33).

— Corps de la spermathèque pas plus de 7 fois aussi long que sa largeur maximum, brusquement rétréci à sa base. Bucco-pharynx armé de dents fortes, très caractéristiques.....
 **P. yucatanensis** Galliard, 1931 ;
 **P. baduelensis** Floch et Abonnenc, 1931 (Pl. III, fig. 34) ;
 (= *P. villelai* Mangabeira, 1942).

28. — Cavité buccale armée de 22 à 24 dents horizontales fines, longues et aiguës, disposées en une seule rangée et munies chacune d'une arête centrale. Conduit individuel un peu plus de deux fois aussi long que le corps de la spermathèque.....
 *P. chiapanensis*, Dampf, 1947 (Pl. III, fig. 35).

— Cavité buccale armée de 4 à 10 dents horizontales disposées en une ou plusieurs rangées 29

29. — Corps de la spermathèque en forme de carotte, diminuant progressivement de largeur de l'apex à la base, très nettement anneau sur toute sa longueur, le dernier anneau à peine plus développé que les autres 30

— Corps de la spermathèque plus ou moins cylindrique, fusiforme ou en forme de cigare, la partie apicale n'étant pas la plus large 31

30. — Conduits individuels de la spermathèque très longs et filiformes, plus de 10 fois aussi longs que le corps de la spermathèque.....
 *P. avellari* Costa Lima, 1932 (Pl. III, fig. 37) ;
 *P. guimaraesi* Coutinho et Barretto, 1942 (Pl. III, fig. 38) ;
 **P. travassosi** Mangabeira, 1942 (Pl. III, fig. 36).

— Conduit individuel pas plus de 5 fois aussi long que la spermathèque. *P. noguchii* Shannon, 1939 (Pl. III, fig. 39) ;
 *P. osornoi* Ristorcelli et Dão Van Ty, 1941 (Pl. IV, fig. 40).

31. — Corps de la spermathèque cylindrique et nettement anneau, conduits individuels très courts, plus courts que le corps de la spermathèque et que le conduit commun 32

— Corps de la spermathèque lisse ou strié plus ou moins fusiforme 33

32. — Corps de la spermathèque avec 16 anneaux environ, le terminal étant nettement plus long que large.....
 *P. bourrouli* Barreto et Coutinho, 1941 (Pl. IV, fig. 41).

— Corps de la spermathèque avec 24 anneaux environ, le terminal étant moins long que large.....
 **P. infraspinosus** Mangabeira, 1941 (Pl. IV, fig. 42).

33. — Palpes longs, plus de 900 μ ; corps de la spermathèque régulièrement fusiforme, plus de 4 fois aussi long que large (4,5) dans sa plus grande largeur ; rapport : $\frac{\text{conduit commun}}{\text{corps de la spermathèque}} = 6,1..$
 **P. pacæ** Floch et Abonnenc, 1943 (Pl. IV, fig. 43).

— Palpes de 700 μ de long 34

34. — Conduit individuel plus court que le corps de la spermathèque ; rapport : $\frac{\text{conduit commun}}{\text{corps de la spermathèque}} = 2,3..$
 **P. shannoni** Dyar, 1929 (Pl. IV, fig. 45) ;
 (= *P. limai* Fonseca, 1935) ;
 (= **P. bigeniculatus** Floch et Abonnenc, 1941).

— Conduit individuel beaucoup plus long que le corps de la spermathèque qui est dépourvu de bouton terminal ; III^e segment des antennes très développé (450 μ de long).....
 **P. nordestinus** Mangabeira, 1942 (Pl. IV, fig. 44) ;
 (= *P. longicornutus*, Floch et Abonnenc, 1943).

35. — Corps de la spermathèque nettement segmenté sur toute sa longueur ou en partie 36

— Corps de la spermathèque lisse, strié ou présentant seulement des bourrelets irréguliers ne formant pas d'anneaux bien définis 43

36. — Corps de la spermathèque nettement cylindrique, 9 anneaux bien définis..... *P. longipalpis* Lutz et Neiva, 1912 (Pl. IV, fig. 47).

— Corps de la spermathèque diminuant régulièrement de largeur de l'apex à la base, la partie apicale étant la plus large..... 37

37. — 6 anneaux subégaux, réguliers, répartis sur tout le corps de la spermathèque..... *P. singularis* Costa Lima, 1932 (Pl. IV, fig. 48).

— Plus de 6 anneaux ou crénélures ; s'il y en a 6 ou moins de 6, le 1/3 distal n'est pas segmenté 38

38. — V^e segment des palpes plus long que les segments II + III + IV ..
 **P. rorotaensis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. IV, fig. 49).

— V^e segment des palpes nettement plus court que les segments II + III + IV 39

39. — V^e segment des palpes plus court que les segments II + III ; rapport conduits individuels conduits individuels / conduit commun = 3 environ ; 14 anneaux environ...
 *P. lanei* Barretto et Coutinho, 1941 (Pl. IV, fig. 50).
 — V^e segment des palpes plus long que les segments II + III... 40

40. — Dernier anneau de la spermathèque court, discoïdal.....
 *P. caverniculus* Costa Lima, 1932 (Pl. IV, fig. 54).
 — Dernier anneau de la spermathèque long, globuleux 41

41. — Armature buccale constituée par 4 fortes dents horizontales sub-égales 42
 — Armature buccale constituée par 18-20 dents longues, fines et aiguës, munies chacune d'une arête centrale ; conduits individuels de la spermathèque pas plus de 3 fois aussi longs que le corps....
 ***P. cayennensis*** Floch et Abonnenc, 1941 (Pl. IV, fig. 51).
 — Armature buccale constituée par 34 dents horizontales, fines, longues et aiguës, munies chacune d'une arête centrale.....
 ***P. ctenidophorus*** Fairchild et Hertig, 1948 (Pl. IV, fig. 52).
 — Armature buccale constituée par 11 dents horizontales, fines, longues et aiguës, munies chacune d'une arête centrale ; conduits individuels de la spermathèque 4 fois aussi longs que le corps....
 *P. cayennensis*, var. *puertoricensis*, Fairchild et Hertig, 1948
 (Pl. IV, fig. 53).
 — Armature buccale constituée par 12-14 dents horizontales, fines, longues et aiguës, munies chacune d'une arête centrale.....
 *P. cayennensis*, var. *viequesensis*, Fairchild et Hertig, 1948
 (Pl. V, fig. 56) ;
 *P. cayennensis*, var. *maciasi*, Fairchild et Hertig, 1948
 (Pl. V, fig. 55).

42. — $\alpha/\beta = 1,3$; plage pigmentée de la cavité buccale longue et étroite.
 *P. stewarti* Mangabeira et Galindo, 1944 (Pl. V, fig. 57).
 — $\alpha/\beta = 2$; pas de plage pigmentée visible, conduits de la spermathèque 10 fois aussi longs que le corps de celle-ci
 *P. gomezi* Nitzulescu, 1931 (Pl. V, fig. 58) ;
 (= *P. suis* Rozeboom, 1940).
 — $\alpha/\beta = 2,6$; plage pigmentée peu marquée mais bien définie et bien visible ; conduits de la spermathèque 6 fois aussi longs que le corps de celle-ci.....
 ***P. japignyi*** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. V, fig. 59).

43. — Corps de la spermathèque entièrement lisse, fusiforme, à parois épaisses ; conduit individuel + conduit commun plus de 3 fois aussi long que le corps de la spermathèque.....
 .. ***P. punctigeniculatus*** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. V, fig. 63).

- Corps de la spermathèque cylindrique à extrémité arrondie ; pas de conduit commun ; conduit individuel une fois et demie aussi long que le corps de la spermathèque.....
..... **P. sp. de Maripa** Floch et Abonnenc, 1946 (Pl. V, fig. 62).
- Corps de la spermathèque strié ou présentant des bourrelets irréguliers 44
- 44. — Corps de la spermathèque en forme de baril, strié dans le sens longitudinal ; un bouton terminal bien développé ; conduits individuels très courts, plus courts que le corps de la spermathèque.....
..... **P. pestanai** Barreto et Coutinho, 1941 (Pl. V, fig. 61).
- Corps de la spermathèque cylindrique et grossièrement segmenté sur toute sa longueur ; conduits individuels très longs, plus de 7 fois la largeur du corps de la spermathèque.....
..... **P. almazani** Galliard, 1934 (Pl. V, fig. 60).
- Corps de la spermathèque en forme de grosse massue, largeur 75 μ environ, pas de bouton terminal visible, conduits individuels plus courts que la spermathèque.....
..... **P. bursiformis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. V, fig. 65).
- Corps de la spermathèque grossièrement plissé, les anneaux mal définis, sauf l'apical qui est plus long et moins large que les autres ; conduits individuels environ 2 fois aussi longs que le corps de la spermathèque, débouchant dans un conduit commun très large et un peu plus long que les conduits individuels.....
..... **P. verrucarum** Townsend, 1913 (Pl. V, fig. 66).
- Corps de la spermathèque en forme de carotte, finement strié, conduits individuels de même longueur que le corps de la spermathèque, conduit commun 2 fois plus long que celle-ci.....
.. **P. columbianus** Ristorcelli et Dâo Van Ty, 1941 (Pl. V, fig. 67) ;
.. (= **P. monticolus** var. *incarum* Ristorcelli et Dâo Van Ty, 1941).
- Corps de la spermathèque conique, finement strié transversalement sur toute sa longueur, bouton terminal large et profondément invaginé dans le corps de la spermathèque ; conduits individuels très longs, 8 fois aussi longs que le corps de la spermathèque, finement striés d'un bout à l'autre.....
..... **P. evansi** Nunez Tovar, 1924 (Pl. V, fig. 68).
- 45. — Corps de la spermathèque nettement annelé ou à bords crénelés 46
 - Corps de la spermathèque lisse ou finement strié, ou quelquefois grossièrement plissé, sans anneaux nettement définis..... 48
- 46. — V^e segment des palpes plus court que les segments III + IV ; corps de la spermathèque en forme de poire ; 6 anneaux de même épaisseur répartis sur toute la longueur du corps.....
..... **P. monticolus** Costa Lima, 1932 (Pl. V, fig. 64).
- V^e segment des palpes plus long que les segments III + IV.. 47

47. — Corps de la spermathèque cylindrique avec 8-9 crénélures ; dernier anneau beaucoup plus large que les autres, pas de bouton terminal visible ; conduits individuels très fins.....
..... *P. amarali* Barretto et Coutinho, 1940 (Pl. VI, fig. 69).

— Corps de la spermathèque composé de 4 gros anneaux dont les 2 médians sont moins larges et moins longs que l'apical et le basal ; bouton terminal bien développé ; indice alaire $\alpha/\beta = 5$
..... *P. alphabeticus* Fonscça, 1936 (Pl. VI, fig. 70).

— Corps de la spermathèque conique, strié transversalement sur toute sa longueur ; bouton terminal bien développé ; conduits individuels longs, 6 fois environ la longueur du corps de la spermathèque ; V^e segment des palpes aussi long que les segments II + III + IV. *P. lichyi* Floch et Abonnenc, 1950 (Pl. VI, fig. 71).

— Corps de la spermathèque piriforme, 5 à 7 anneaux répartis irrégulièrement sur la moitié basale du corps, la moitié apicale n'étant pas annelée, bouton terminal bien développé ; conduits individuels de la spermathèque épais ; largeur du corps/largeur du conduit = 3 environ ; indice alaire $\alpha/\beta = 1,5$
..... *P. oswaldoi* Mangabeira, 1942 (Pl. VI, fig. 72).

48. — Corps de la spermathèque sans bouton terminal, globuleux, avec des soies fines, éparses sur la calotte apicale. Conduits individuels 5 fois aussi longs que le corps de la spermathèque.....
..... ***P. heckenrothi*** Floch et Abonnenc, 1942 (Pl. VI, fig. 73).

— Corps de la spermathèque sans bouton terminal globuleux. Conduit individuel très court, plus court que le corps de la spermathèque. Epines géniculées des antennes avec prolongements postérieurs très longs.....
..... ***P. sp. n° 768*** Floch et Chassagnet, 1948 (Pl. VI, fig. 74).

— Corps de la spermathèque muni d'un bouton terminal ou si celui-ci est peu visible, les soies émergent groupées en bouquet de l'apex du corps 49

49. — V^e segment des palpes aussi long ou plus long que les segments II + III + IV 50

— V^e segment des palpes nettement plus court que les segments II + III + IV 51

50. — Corps de la spermathèque en forme de fourneau de pipe ; pas de séparation nette entre le corps et le conduit, si ce n'est un coude de 90 à 135° ; pas de conduit commun.....
..... ***P. chassigneti*** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. VI, fig. 75).

— Corps de la spermathèque en forme de poire, nettement séparé du conduit individuel ; conduit commun relativement long ; cavité buccale armée de 4 dents horizontales très courtes, peu marquées ; plage pigmentée large et très assombrie.....

..... **P. atroclavatus** Knab, 1913 (Pl. VI, fig. 76) ;
 (= *P. tejeræ* Larrousse, 1920) ;
 (= *P. guadeloupensis* Floch et Abonnenc, 1945).

— Corps de la spermathèque en forme de poire nettement séparé du conduit individuel ; cavité buccale armée de 4 dents larges et fortes bien visibles ; plage pigmentée étroite et peu marquée.....
 **P. zuliaensis** Floch et Abonnenc, 1948 (Pl. VI, fig. 77).

51. — Corps de la spermathèque présentant sur sa moitié apicale de nombreux tubercles diminuant de grosseur de la base à l'apex..
 **P. pinealis** Floch et Abonnenc, 1944 (Pl. VI, fig. 78).

— Corps de la spermathèque lisse, finement strié ou plissé.... 52

52. — Conduits individuels nettement plus courts que le conduit commun 54
 — Conduits individuels plus longs que le conduit commun.... 56
 — Pas de conduit commun; corps de la spermathèque globuleux 53

53. — Conduit individuel 3 fois aussi long que le corps de la spermathèque ; 19 dents horizontales et 3 rangées (de 14 à 17 chacune) de dents verticales au bucco-pharynx.....
 **P. texanus** Dampf, 1946 (Pl. VI, fig. 79).

— Conduits individuels au moins 6 fois aussi longs que le corps de la spermathèque ; 6 dents horizontales au bucco-pharynx.....
 **P. trichopygus** Floch et Abonnenc, 1945 (Pl. VI, fig. 80).

54. — Corps de la spermathèque se rétrécissant progressivement pour s'unir au conduit individuel qui est très court ; rapport : conduit commun/conduit individuel = 3.....
 **P. vespertilionis** Fairchild et Hertig, 1947 (Pl. VII, fig. 81).

— Corps de la spermathèque brusquement rétréci à son union avec le conduit individuel 55

55. — Rapport : conduit commun/conduit individuel = 4,2 ; corps de la spermathèque grossièrement cylindrique ; épines géniculées des antennes sans prolongement postérieur.....
 **P. choti** Floch et Abonnenc, 1941 (Pl. VII, fig. 93).

— Rapport : conduit commun/conduit individuel = 2 environ ; corps de la spermathèque grossièrement cylindrique ; épines géniculées des antennes sans prolongement postérieur.....
 **P. triacanthus** Mangabeira, 1942 (Pl. VII, fig. 82).

— Rapport : conduit commun/conduit individuel = 2 environ ; corps de la spermathèque globuleux ; épines géniculées des antennes présentant des prolongements postérieurs aussi longs que la largeur du segment sur lequel elles sont insérées.....
 **P. sp. de Cayenne** Floch et Abonnenc, 1945 (Pl. VII, fig. 83) ;
 ... (= *P. lutzianus* ?).

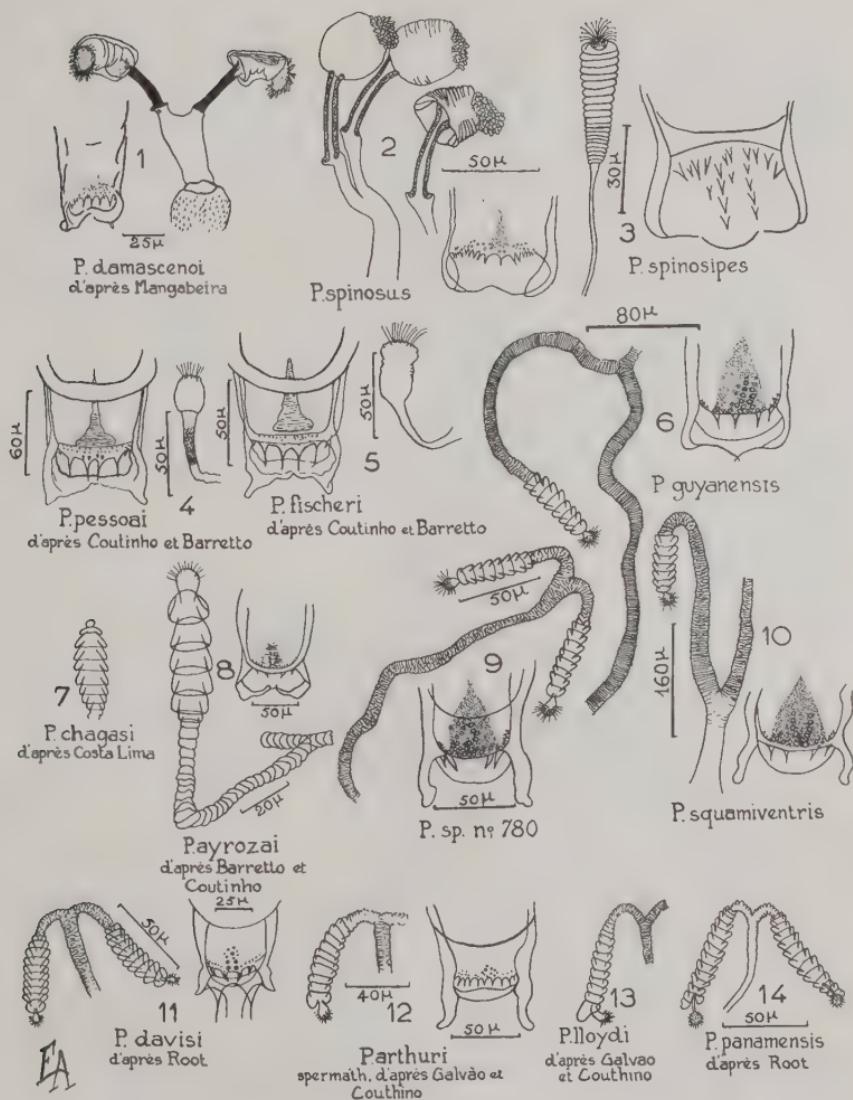
56. — Rapport : conduit individuel/conduit commun = 1,1 ; corps de la spermathèque en forme de carotte courte, diminuant régulièrement de largeur de l'apex à la base, finement strié transversalement..... *P. longispinus* Mangabeira, 1942 (Pl. VII, fig. 84).
 — Rapport : conduit individuel/conduit commun supérieur à 2 ; corps de la spermathèque lisse, globuleux ou en forme de capuchon 57

57. — Corps de la spermathèque globuleux, avec un col basal, rappelant une ampoule électrique ; bouton terminal court et arrondi..... *P. fonsecai* Costa Lima, 1932 (Pl. VII, fig. 85).
 — Corps de la spermathèque en forme de capuchon, plus large à la base qu'à l'apex ; appendice terminal (tête) très allongé, fin et cylindrique *P. evandroi* Costa Lima et Antunes, 1936 (Pl. VII, fig. 86).

58. — Corps de la spermathèque à peu près aussi large que le conduit individuel 59
 — Corps de la spermathèque nettement plus large que le conduit individuel 60

59. — Corps de la spermathèque petit, en forme de sphère aplatie de haut en bas, conduits individuels très longs, environ 600 μ *P. oppidanus* Dampf, 1944 (Pl. VII, fig. 87).
 — Conduits individuels de 280 μ environ..... *P. vindicator* Dampf, 1944 (Pl. VII, fig. 88).
 — Conduits individuels de 180 μ *P. vexator* Coquillet, 1907 (Pl. VII, fig. 88bis).
 — Corps de la spermathèque en forme de capuchon, conduits individuels très larges à la base et diminuant progressivement de largeur de la base à l'apex, 140 μ de longueur..... *P. sp. de Baduel* Floch et Abonnenc, 1945 (Pl. VII, fig. 92).

60. — V^o segment des palpes plus long que les segments II + III..... *P. walkeri* Newstead, 1914 (Pl. VII, fig. 89).
 — V^o segment des palpes plus court que les segments II + III.....
 *P. cortelezzii* Brethes, 1923 (Pl. VII, fig. 91) ;
 *P. sallesi* Galvão, Ayroza et Coutinho, 1939 (Pl. VII, fig. 90) ;
 *P. edwardsi* Mangabeira, 1941 (Pl. VII, fig. 94).



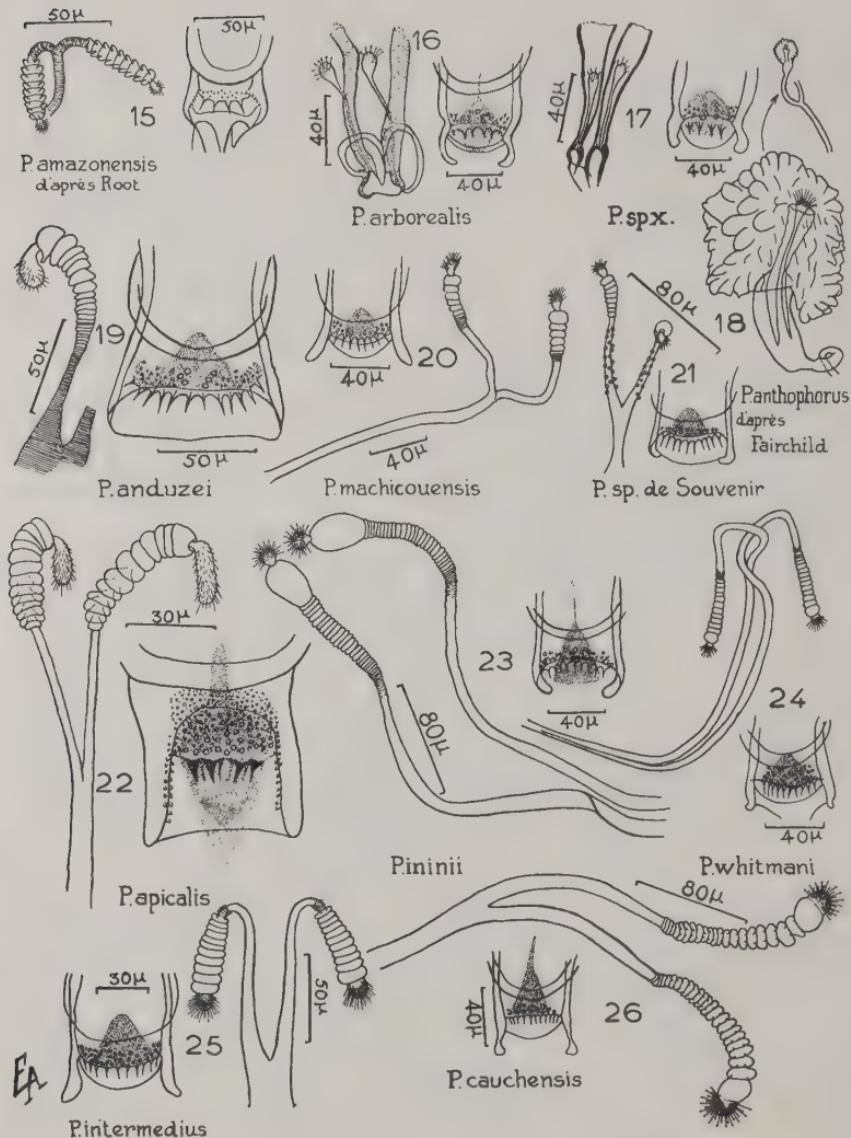


PLANCHE II

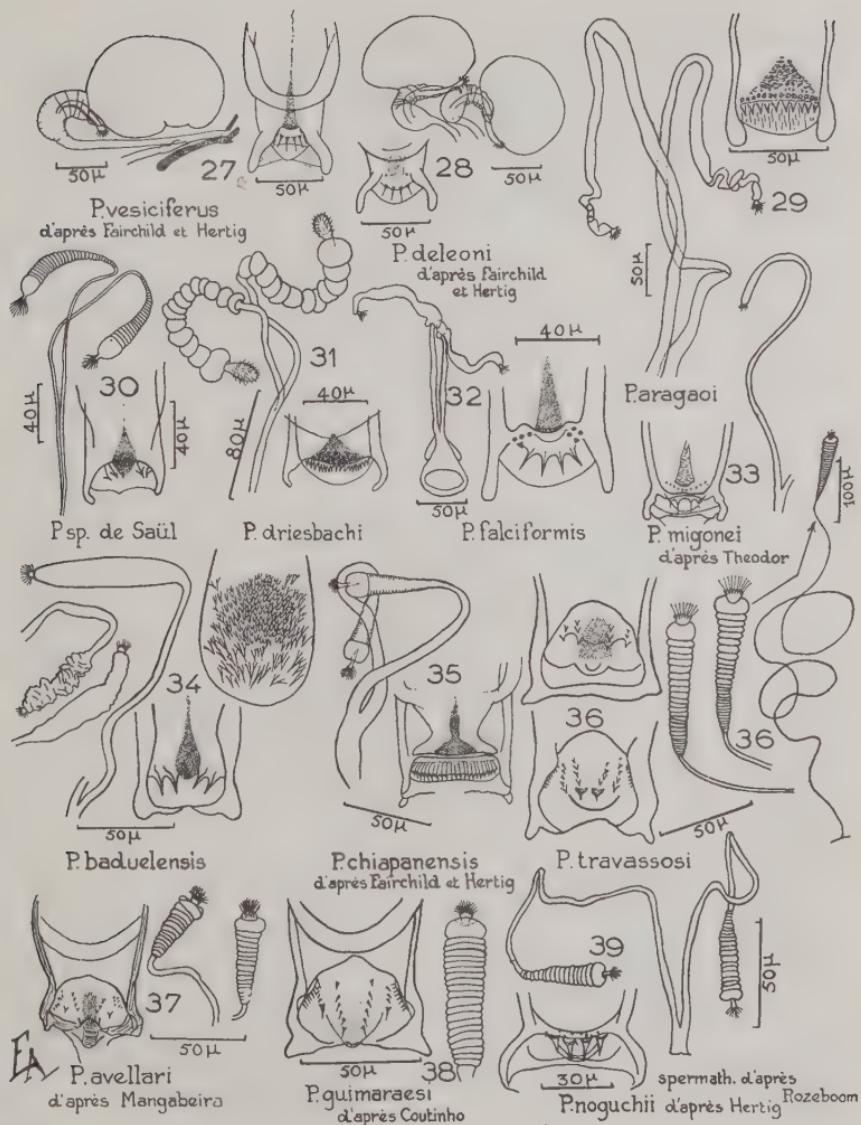
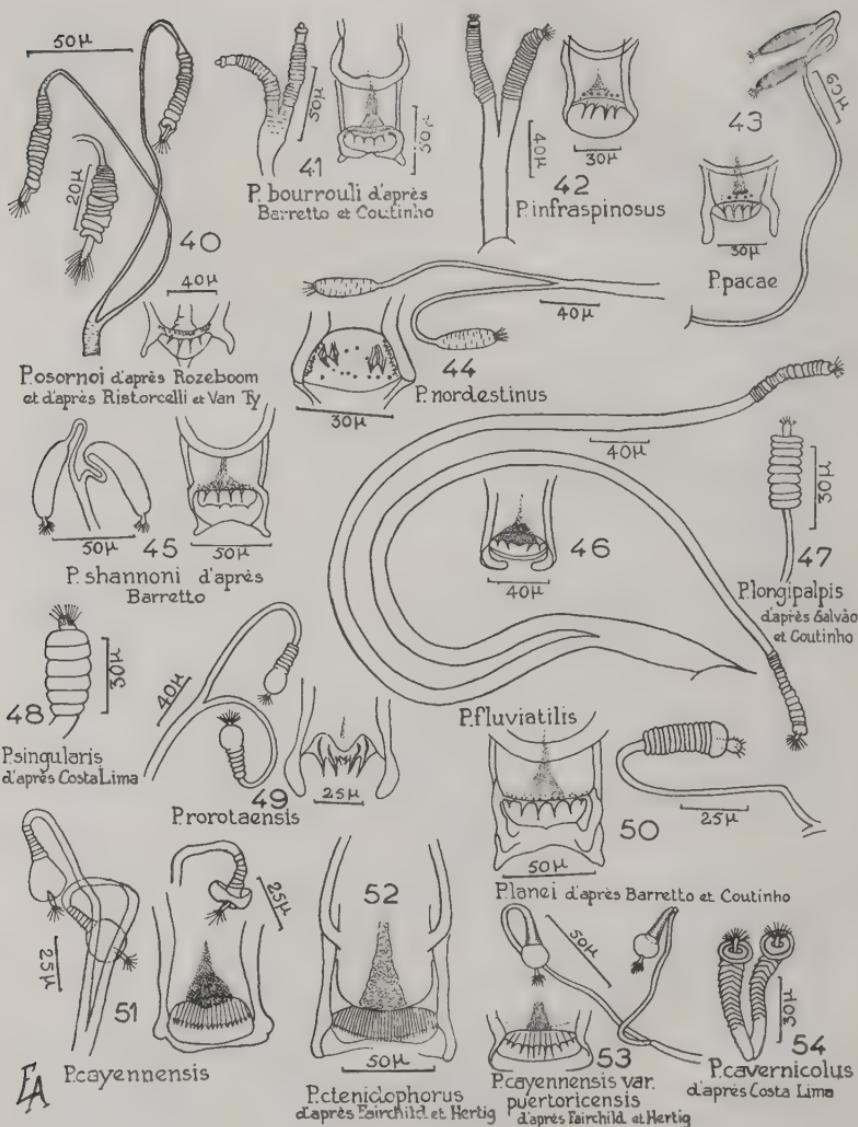
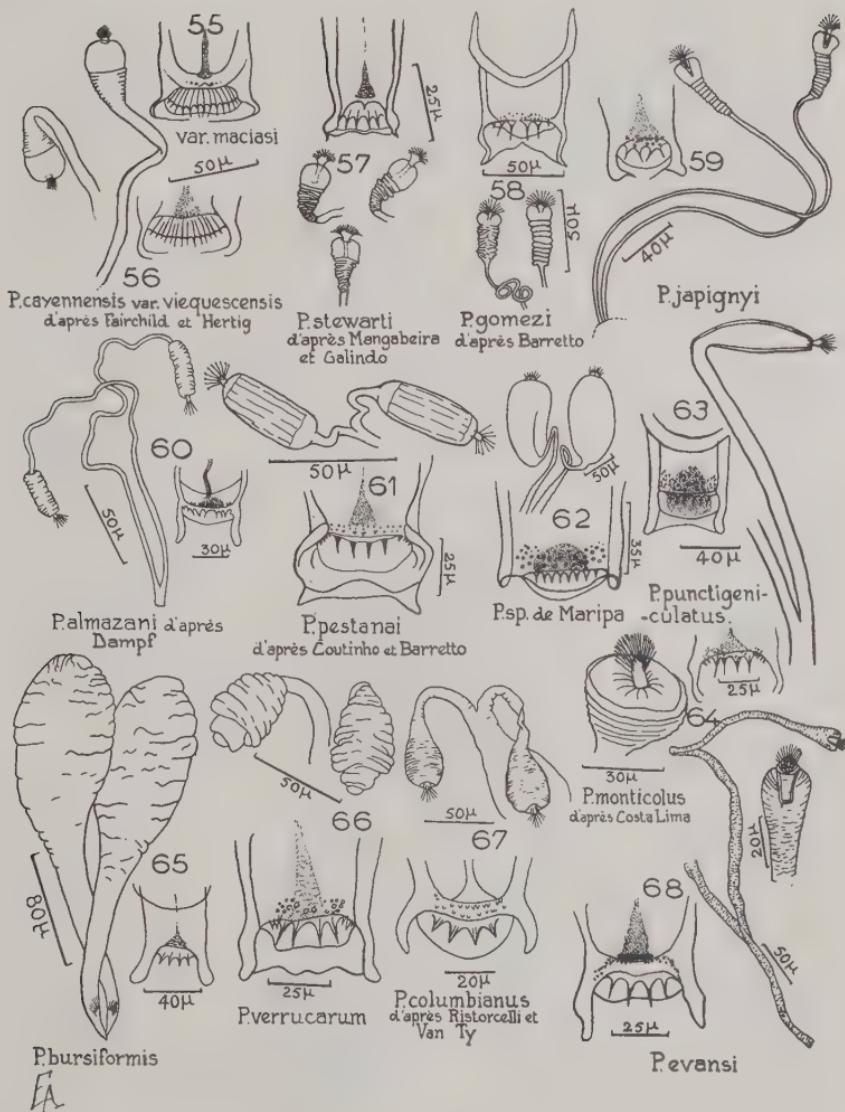
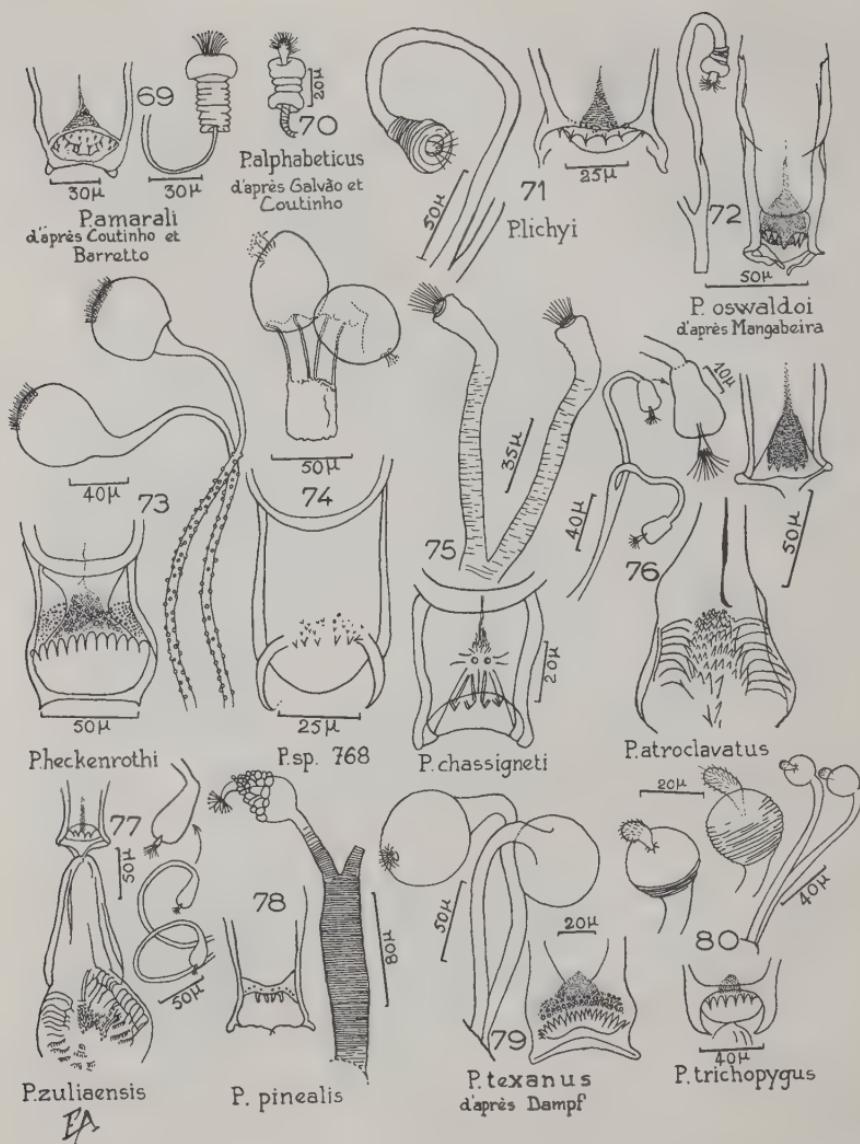
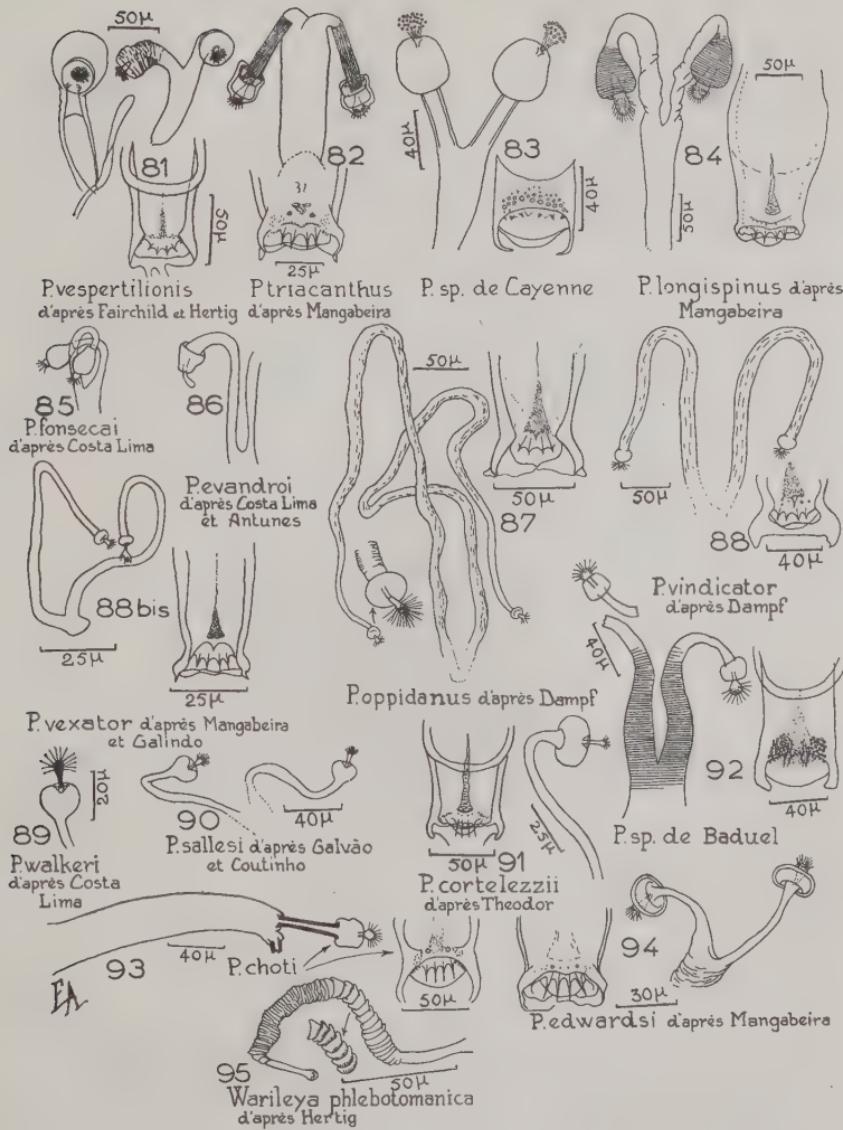


PLANCHE III









SUR UNE NOUVELLE ESPÈCE DE *STREPTOMYCES*
(*STREPTOMYCES GALTIERI* n. sp.), ISOLÉE
D'UN CAS D'ACTINOMYCOSE SEPTICÉMIQUE CHEZ LE CHIEN

Par P. GORET et L. JOUBERT

Au cours de l'année 1948, nous avons eu l'occasion de déceler chez un chien de trois mois une « actinomycose » septicémique, dont nous avons donné ailleurs (1) la relation. Du point de vue clinique, nous soulignions alors l'intérêt de cette observation dans les termes suivants :

« On peut conclure :

« 1° Qu'il s'agit d'un cas d' « actinomycose » généralisée et septicémique du chien. En effet, l'ubiquité des lésions thoraciques, abdominales et cérébrales et du germe spécifique ne peut laisser de doute sur ce sujet.

« 2° Qu'il s'agit d'un processus rapide puisque, en accord avec les « commémoratifs, les « grains » actinomycosiques, si caractéristiques de la longueur d'évolution de cette infection, ne purent jamais être décelés dans le cas présent. La réaction vasculo-sanguine, l'intégrité des tubes urinifères, la présence, au sein de la moelle osseuse elle-même, d'éléments en multiplication active (croissance angulaire d'Ørskov), confirment ce caractère.

« 3° Qu'on est donc bien en présence d'une forme non encore décrite d' « actinomycose » canine, réunissant, en un seul et même processus morbide d'évolution rapide, des formes cliniques considérées comme rares ou exceptionnelles chez le chien (actinomycoses nerveuses et viscérales). »

Il nous paraît intéressant de rendre compte de l'étude détaillée du germe en cause, déjà amorcée dans notre précédente publication.

Le germe responsable, aérobie strict, présente des caractères qui le différencient nettement des Actinomycétales pathogènes jusqu'alors décrites.

(1) P. GORET et L. JOUBERT. — *Rev. Méd. Vét.*, C, 1949, 561.

I. — CARACTERES MORPHOLOGIQUES

1. Bouillon et gélose nutritive ordinaires. — Ce germe n'échappe pas à la règle qui confère aux *Actinomyces* un très grand polymorphisme.

A l'état jeune, il forme de longs filaments flexueux, de 3 à 25 μ de long sur 1 μ de large, donnant des ramifications généralement perpendiculaires au filament principal, uniques au point d'implantation. Parfois, certains éléments bacilliformes s'associent par deux

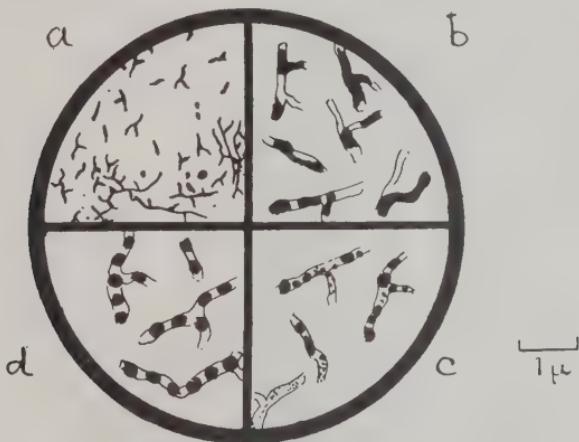


FIG. 1. — Représentation demi-schématique de l'aspect microscopique de l'*Actinomyces* et de son mode de fragmentation. a) Frottis sur une culture jeune. b) Condensation protoplasmique irrégulière. c) Granulation. d) Endospores.

ou trois et présentent des figures alphabétiques en X, Y ou L (croix d'Ørskov).

On n'observe ni flagelles, ni capsules. Caractère important : il n'existe pas de *spores latérales pédicellées* (fig. 1, a).

Ces éléments allongés ne tardent pas, en culture surtout, à se fragmenter selon des modes multiples qu'il faut préciser, en raison de leur importance pour la classification du germe :

a) Le protoplasma se concentre en certains points, de manière irrégulière, et les ponts filamentueux qui les joignent se lysent, laissant en place des éléments de toutes formes et de toutes dimensions (sphérides, ovoïdes, formes en S, en U, quelquefois même streptobacilles) (fig. 1, b).

b) Un mode spécial de granulation peut engendrer des éléments arrondis de toutes grosseurs, mais d'un diamètre toujours inférieur au filament initial ; cette poussière protoplasmique peut parvenir jusqu'à la limite de la visibilité (fig. 1, c). Ces types de fragmentation, absolument banals chez les Actinomycètes, n'offrent que peu d'intérêt.

c) Il n'en est pas de même pour un autre mode de fragmentation, qui consiste dans la condensation protoplasmique régulière des éléments actinomycosiques. Les formations ovalaires qui en résultent,



FIG. 2. — ASPECTS EN MILIEUX SUCRÉS. A. Czapek glycosé de Waksman. — (Après 15 jours d'étauve à 25° C.). a) Aspect banal dans l'épaisseur du milieu. b) Morphologie du mycélium rampant sur la paroi de verre. B. Gélose glycosée de Sabouraud. — (Après 5 jours d'étauve à 30° C.). a) Filaments allongés. b) Condensations protoplasmiques irrégulières. c) Ebauche de granulation. d) Endospores. e) Endospores et vrilles.

ou « endospores », constituent l'*efflorescence*, très caractéristique des cultures d'un groupe particulier d'Actinomycétales : les *Streptomyces* (fig. 1, d).

2. En milieux sucrés. — *Filaments rampant sur milieux solides ou filaments immergés dans les milieux liquides.* — Sur les parois de verre, filaments flexueux, avec ramifications le plus souvent à angle droit. Le diamètre est de 0 μ , 3 à 0 μ , 8 (fig. 2, A, a et b).

Filaments aériens. — Ramifiés, formant des vrilles sinistrorses,

a

b

FIG. 3. — Sur bouillon (les tubes de culture ont été inclinés) :
a, voile ; *b*, colonie isolée.



FIG. 4. — Sur gélose: *a*, nappe ;
b, colonies isolées (on distingue la dissociation en colonies A et B, ces dernières se massant, de préférence, dans le fond du tube).



a

b

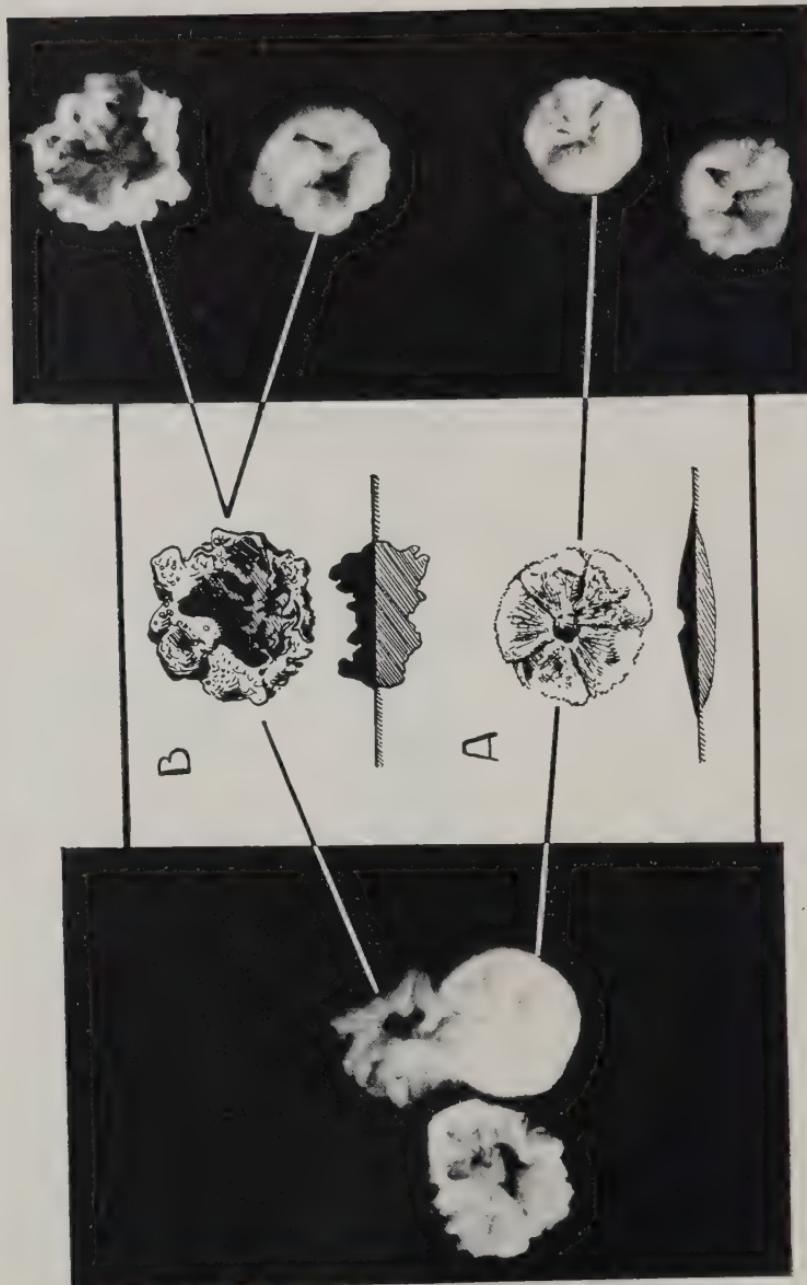


FIG. 5 et 6. — Dissociation en milieu solide (plan et coupe)

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

se fragmentant en arthrospores rondes ou en bâtonnets, qui peuvent présenter des figures en X ou en Y, lesquelles, plus tard, se fragmentent également en conidies. Diamètre $\pm 0 \mu$, 8.

Endospores ou « conidies ». — Ovales, $0,8-1 \mu$, $5 \times 0 \mu$, 8 (fig. 2, B, d et e).

II. — COLORATION

Ce germe se colore très facilement par les colorants d'aniline et, en particulier, garde le Gram. Aucune forme acido-résistante ne peut être décelée.

III. — CARACTERES CULTURAUX

I. Milieux nutritifs ordinaires

Les cultures se réalisent très facilement en aérobiose à une température voisine de 37° , dans les milieux usuels de laboratoire. Les exigences respiratoires et thermiques de ce germe sont assez strictes à l'isolement. Cependant, une atmosphère enrichie en CO_2 (10 à 20 p. 100) s'est révélée particulièrement favorable à sa croissance.

En milieu liquide, les colonies — ou plus exactement les thalles — forment de petits flocons qui se déposent au fond du tube. Ils constituent, en surface, un voile blanc, sec, écaillieux, fragile, tendant à remonter le long de la paroi de verre (fig. 3, a). Le milieu ne se trouble jamais.

La colonie isolée en voile, sur bouillon, prend un aspect cratéiforme, comparable à celui des colonies isolées sur gélose (fig. 3, b).

Sur milieu solide, apparaissent, en trois à quatre jours, des thalles de la grosseur d'une tête d'épingle, hémisphériques, d'un blanc de plâtre, secs, écaillieux, inodores. En certains milieux (pomme de terre notamment), un pigment discret, jaune rosé, se développe. En quelques jours, les colonies, confluentes lorsque l'ensemencement a été suffisamment abondant, donnent l'apparence d'une nappe plâtreuse et rugueuse (fig. 4, a). Les colonies isolées, en revanche, doublent et triplent de volume et s'ombiliquent rapidement, sans jamais tendre vers la confluence (fig. 4, b). Après vieillissement de la colonie, apparaît une coloration brune, qui ne correspond pas à un véritable pigment, mais à la production d'une quinone oxydable en aérobiose.

DISSOCIATION. — Au cours de cette étude bactériologique, se révéla, sur milieux solides, un curieux phénomène de dualité mor-

phologique dans les colonies baptisées arbitrairement « A » et « B » (voir fig. 5 et 6). En voici succinctement le détail :

Colonie « A ». — Colonie petite, plate, ombiliquée, blanche, enchaînée dans la gélose en cupule régulière, à surface finement granuleuse, striée radiairement et comme givrée, donnant en bouillon un voile pelliculaire fragmenté en larges plaques.

Colonie « B ». — Colonie grande, surplombant fortement la surface de la gélose, donnant l'apparence d'une éponge, de couleur chamois, encastrée dans la gélose profondément et irrégulièrement, à surface lisse, parsemée de minuscules gouttelettes de sérosité, donnant en bouillon un voile granulaire difficilement dissociable.

Les caractères morphologiques particuliers à chacun des types de colonies se transmettent régulièrement par repiquage en série sur gélose nutritive ordinaire.

Comme les deux types ne se différencient, en dehors des caractères morphologiques, que par un comportement différent de la culture en CO_2 d'une part (colonie B = culture en atmosphère de CO_2 ; colonie A = pas de culture en atmosphère de CO_2) et de l'utilisation du citrate de soude d'autre part (colonie B = citrate + ; colonie A = citrate —), nous pensons qu'il s'agit bien d'un phénomène de dissociation, encore inédit chez les Actinomycétales.

2. — Milieux spéciaux *

Czapek saccharosé gélosé selon Waksman (2). — 8 jours, pH 6,1.

Thalles restreints couverts d'une efflorescence blanche, farineuse. Pas de pigment soluble.

Czapek glycosé gélosé selon Waksman (2). — 8 jours, pH 6,1.

Croissance un peu plus forte que sur Czapek saccharosé. Pas d'autres différences.

Gélose au malate de calcium (5). — 14 jours, pH 7.

Thalles restreints, granuleux, couverts d'une efflorescence blanche, farineuse. Les revers (****) sont de couleur rose-orangée (CC. 128 D-103) (**). Pas de pigment soluble.

(*) Observations faites sur cultures à la température de 25°, sauf indication contraire.

Le chiffre () suivant l'indication de chaque milieu correspond à celui numérotant les milieux dans : WAKSMAN, Cultural studies of species of *Actinomyces*. *Soil. Sc.*, VIII, 1919, p. 81-83.

(**) Les symboles utilisés pour exprimer la coloration sont tirés de P. KLINCKSIECK et Th. VALETTE, *Code des Couleurs*, Paris, 1908.

(***) Le revers de la colonie correspond à la partie visible par examen à travers le milieu-support.

Milieu amidonné de Waksman (15). — 14 jours, pH 7,2.

Thalles restreints, minces, couverts d'efflorescence blanche, farineuse, à bords lobés irrégulièrement. Pas de pigment soluble.

Pomme de terre glycérinée, pH 6,6. — 14 jours.

Thalles punctiformes ; forment en confluant une croûte épaisse, granuleuse de couleur orange-rosée (CC. 78 C-103 C). Les revers sont très ondulés et de la même couleur. Efflorescence apparaissant très tard, blanche, fine, toujours limitée. La pomme de terre n'est pas pigmentée. Pas de pigment soluble.

Gélatine (Goldlabel) (18). — 8 jours, pH 5,7, 20° C.

Thalles nuls ou très petits, punctiformes, couverts d'une efflorescence blanche, farineuse. Liquéfaction très limitée : petit bouton de liquéfaction autour du point d'ensemencement.

Pomme de terre gélosée. — 8 jours, pH 6,6, 20° C.

Thalles restreints, couverts d'une efflorescence blanche, farineuse, avec quelques fentes concentriques. Les revers sont de couleur orange-rosée (CC 128 D). Pas de pigment soluble.

Gélose nutritive de Waksman (8). — 14 jours, pH 5,9.

Thalles restreints, minces, plats, couverts d'une efflorescence blanche, farineuse, à bords arborisés. Les revers sont d'une couleur jaunâtre (CC152). Pigment soluble brun clair.

Gélose nutritive glycérinée de Waksman (8). — 14 jours, pH 5,9.

Développement meilleur que sur le milieu précédent. Thalles punctiformes, formant une croûte granuleuse. Efflorescence blanche, fine. Les revers sont orangés-jaunâtres (CC 156). Pigment soluble peu intense, brun clair.

Gélose saccharosée de Sabouraud. — 14 jours, pH 5,7.

Bonne croissance. Les colonies confluentes forment une nappe plâtreuse, rugueuse, blanche, très légèrement rosâtre. Les revers sont orangés (CC 137-127). Pas de pigment soluble.

Gélose peptonée. — 14 jours, pH 5,3.

Thalles très restreints, couverts d'une efflorescence blanche, farineuse. Les revers sont crémeux. Pigment soluble très peu intense, brun roussâtre.

Milieu glucosé peptoné de Waksman (9). — 14 jours, pH 7.

Croissance abondante. Nombreux thalles punctiformes formant un voile à la surface, couvert d'une efflorescence. Dans le liquide : grands flocons hyalins. Pigment soluble peu intense, brunâtre.

Czapek amidonné (1). — 14 jours, pH 7,5.

Thalles formant un voile extrêmement mince, hyalin en surface. Pas d'efflorescence. Dans le liquide, quelques flocons hyalins. Pas de pigment soluble.

Czapek saccharosé (1). — 14 jours, pH 7,5.

Même aspect que sur Czapek amidonné.

Czapek glycériné. — 14 jours, pH 7,5.

Thalles punctiformes, formant un voile épais, couverts d'une efflorescence. Dans le liquide, quelques flocons hyalins. Pas de pigment soluble.

Lait écrémé (17). — \pm 14 jours, pH 6.

25° C. Croissance assez lente. Thalles formant un voile mince, couverts d'une efflorescence blanche. Les thalles fixés aux parois du verre ont un revers jaune-orange (CC 151). Pas de pigment soluble.

37° C. Pas de différences avec les cultures à 25° C.

Sérum de bœuf gélosé. — 16 jours, pH 7,0.

Thalles plats, humides, blanches-grisâtres. Efflorescence très mince. Milieu se décolorant de blanc à brun violet (CC 122) au-dessous des thalles.

Gélose au sang. — 16 jours, pH 7,0.

Thalles restreints, un peu surélevés, couverts d'une efflorescence se fendillant dans les parties les plus élevées.

Milieu à l'œuf (de Lœwenstein), rouge. — 16 jours, pH 7,0.

Thalles formant une couche surélevée, granuleuse, blanche grisâtre, presque entièrement couverte d'efflorescence. Milieu ne se décolore pas.

Milieu à l'œuf (de Lœwenstein), vert. — 16 jours, pH 7,0.

Comme sur le milieu précédent, mais efflorescence moins abondante et très mince. Milieu se décolore du vert au jaune.

IV. — CARACTERES BIOCHIMIQUES

a) *Action sur les glucides.* — Tant en milieu de Hiss qu'en eau peptonée additionnée d'un indicateur de pH, aucun virage n'a été décelé vis-à-vis des alcools, oses, polysaccharides ou glucosides usuels, même après 20 jours d'étuve à 37°.

Cependant, l'inversion du saccharose est positive après 14 jours d'étuve (Czapek saccharosé).

b) *Action sur les protides.* — Aucune action sur le sérum coagulé ; liquéfaction très faible de la gélatine.

c) *Produits formés dans les milieux de cultures :*

Indole	0
Acétyl-méthyl-carbinol	0

d) *Réduction des nitrates en nitrites* :

Milieu ordinaire	0
Milieu glucosé peptoné	++ (14 jours)
Milieu Czapek saccharosé ou amidonné	++
Milieu Czapek glycériné	+

e) *Changement de réaction* (14 jours). — Inchangée dans le lait à 25° ou 37° C. ; légèrement acide dans le milieu de Czapek saccharosé ou amidonné ; nettement alcalin quand ce dernier milieu est glycériné.

f) *Action diastasique* (14 jours). — Négative.

g) *Action sur le lait écrémé*. — 25° C., nulle ; 37° C., coagulation de lait après environ 20 jours. Pas de digestion du caillot.

V. — CARACTERES BIOLOGIQUES

Pouvoir antibiotique. — Aucune sécrétion antibiotique n'a pu être décelée vis-à-vis des bactéries Gram positives (staphylocoque) et Gram négatives (olibacille).

Vitalité et résistance du germe. — Assez fragile, il se conserve environ deux mois en gélatine, à la température du laboratoire.

VI. — POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL

Le cobaye est sensible à l'inoculation intra-péritonéale de 0,3 cc. de la suspension homogène (broyage au mortier) d'un mélange de culture en bouillon et gélose de 72 à 96 heures.

Il succombe en quatre à huit jours avec des lésions de péritonite exsudative. On note la présence de fausses membranes fibrineuses et de nodules au niveau des différents organes splanchniques. Les lésions sont riches en germes.

L'ensemencement du liquide péritonéal permet d'obtenir une culture pure du germe.

Le lapin s'est montré sensible à l'inoculation intra-veineuse de 1 cc. de suspension. Il succombe en 72 à 96 heures.

Le chien s'est montré insensible à l'inoculation intra-veineuse et intrapéritonéale de 3 cc. d'une suspension épaisse de germes. Ce fait ne laisse pas d'être paradoxal, puisque à l'origine le germe a été isolé chez le chien.

Le pouvoir pathogène accuse une différence profonde entre les deux variantes ; seules, les cultures obtenues à partir de A se montrent pathogènes pour le cobaye, celles issues de B n'étant pourvues que d'une virulence fort discrète envers cet animal. Dans les deux cas, on réisole des lésions un mélange A-B, dont les caractères se transmettent en série.

**VII. — DETERMINATION ET PLACE.
DANS LA SYSTEMATIQUE**

Le germe qui fait l'objet de notre relation apparaît difficile à déterminer.

Nous référant à la classification de Waksman et Henrici, utilisée par Bergey (6^e édition, 1948), il ne fait aucun doute que nous avons affaire à un germe de la classe des Schizomycètes, ordre des Actinomycétales. La famille est plus difficile à préciser.

Ce n'est pas un *Actinomyces*, puisqu'il est aérobie.

Ce n'est pas un *Micromonospora*, puisqu'il n'a pas les spores terminales isolées, pédicellées et qu'il n'est pas fortement thermophile.

En revanche, il présente des caractères se rapportant soit à *Streptomyces*, soit à *Nocardia*.

En effet, c'est un *Streptomyces* : par la présence d'efflorescence (mycélium aérien visible en culture sur lame) ; par son appareil sporifère spiralé ; par sa culture sur pomme de terre.

Toutefois, il s'écarte du genre *Streptomyces* : parce qu'il ne dégage pas d'odeur ; il ne liquéfie pas le sérum coagulé ; il ne liquéfie que faiblement la gélatine ; enfin, parce qu'il possède un pouvoir pathogène relativement élevé, fait rare chez les *Streptomyces*.

Les caractères qui le rapprochent de *Nocardia* sont surtout la fragmentation du mycélium et son pouvoir pathogène, joints précisément aux caractères indécis qui le séparent des *Streptomyces*.

Pour nous, ces caractères sont insuffisants pour éliminer ce germe de la famille des Streptomycétacées et nous pensons, au contraire, pouvoir le ranger à côté des quelques *Streptomyces* faiblement protéolytiques (*S. fordii*, *africanus*, *gallieni*, *pelletieri*, *cisteri*, *upcotti*, *hortonensis*), mais tous pathogènes pour l'homme, et créer une nouvelle espèce. Nous proposons le binôme *Streptomyces galtieri*, en hommage au Professeur Galtier, premier titulaire de la chaire de bactériologie à l'Ecole Vétérinaire de Lyon et premier Chef du Service où ce germe fut récemment isolé.

Nous avions, un moment, pensé faire de ce germe une souche aberrante pathogène d'*Actinomyces carneus* (*Rossi doria*) et créer une nouvelle combinaison : *Streptomyces carneus*, étant donné les ressemblances existant entre notre germe et les souches étudiées par comparaison : Cl. et B. 1.602 de Baldacci.

Mais, d'une part, les caractères d'*A. carneus* et sa classification sont encore mal précisés, et, d'autre part, notre souche s'en distingue par les points suivants : pigmentation moins intense du mycélium ; vrilles sinistrorses ; absence à peu près complète de protéolyse.

RÉSUMÉ

Nous décrivons les caractères d'une nouvelle espèce de *Streptomyces* : *Streptomyces galtieri* n. sp., isolée à partir de lésions spécifiques décelées sur un chien.

**

Nous tenons à remercier bien vivement M. le Professeur Langeron, Directeur de l'Institut de Parasitologie à la Faculté de Médecine de Paris, et l'Equipe d'Etat du Centraal Bureau Voor Schimmelcultures (Baarn, Hollande), Directrice : Mlle J. Westerdijk, pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée et les conseils qu'ils nous ont prodigués au cours de l'élaboration et de la rédaction de ce travail. Nous leur en demeurons fort reconnaissants (1).

(*Laboratoire de Bactériologie de l'Ecole Vétérinaire de Lyon*).

(1) Le manuscrit de ce travail était encore en possession du Professeur Langeron qui en corrigeait les épreuves dactylographiées au moment de la disparition de ce Maître dont la compétence était incontestée. Nos brefs remerciements n'expriment qu'imparfairement toute la reconnaissance que nous devons à sa mémoire.

NOTES ET INFORMATIONS

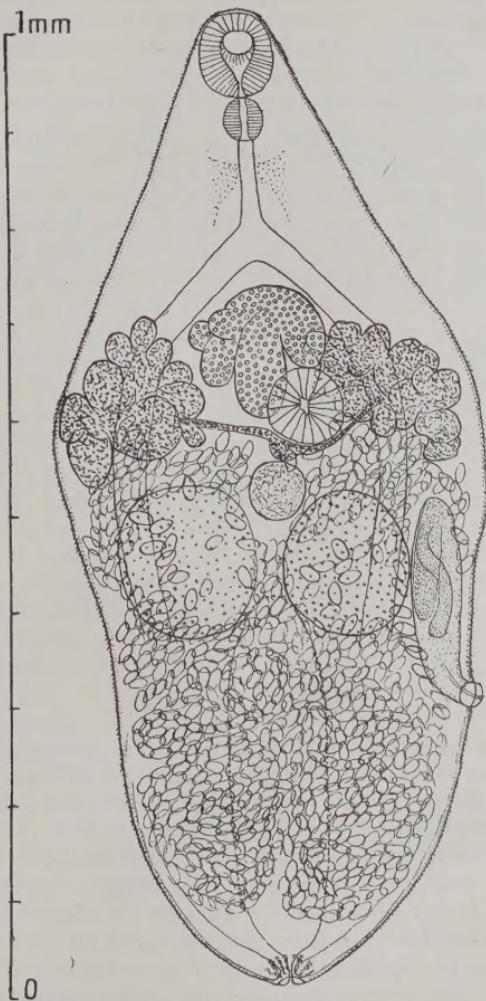
Sur « *Distomum polyoon* » O. von Linstow, parasite mal connu du Ralliforme *Gallinula chloropus* (L.). — Examinant le contenu intestinal d'une poule d'eau, *Gallinula chloropus* (L.), au Laboratoire de Richelieu (Indre-et-Loire), le Dr Ettore Biocca trouva un cistome qu'il me soumit pour identification. Il s'agit du *Distomum polyoon* O. von Linstow (1887, p. 103-104), insuffisamment décrit par O. von Linstow d'après un unique individu de l'intestin de *Gallinula chloropus* (L.) (1). Cet exemplaire original a été décrit par Maximi. Braun (1902, p. 155-156, pl. VIII, fig. 98) qui a vu seulement l'emplacement des vitellogènes, de l'utérus, de la poche du cirre avec le cirre protracté et du pharynx. Depuis lors, en Russie d'Europe, *polyoon* a été mentionné du duodénum de *Gallinula chloropus* (L.) et *Fulica atra* (L.) par T. A. Gynezinskaïa (*in* K. I. Skrjabin, 1948, p. 574, fig. 290), qui a créé pour lui le genre *Leyogonimus*. La description résumée publiée par Skrjabin n'indique pas la forme de la vessie excrétrice ; les testicules sont figurés et décrits comme situés au niveau de l'acetabulum et les cæca intestinaux comme dépassant peu le bord postérieur des testicules. Les dimensions données par Braun, Linstow, Skrjabin, concernent un individu plus petit que celui trouvé à Richelieu.

DIMENSIONS (en mm., sauf pour les œufs)

	D'APRÈS MON SPÉCIMEN	D'APRÈS LINSTOW (1887) p. 104	D'APRÈS BRAUN (1902) p. 156	D'APRÈS SKRJABIN (1949) p. 574
Longueur.....	1,03	0,78	0,73	0,72
Largeur.....	0,44	0,38	0,36	?
Ventouse orale.....	$0,08 \times 0,07$	0,052	?	0,065
Ventouse ventrale...	0,085	0,047	?	0,065
Pharynx	0,04	?	0,0223	?
(Esophage.....	0,08	?	?	?
Poche du cirre.....	$0,22 \times 0,06$?	?	$0,164 \times 0,061$
Receptaculum semi-nis, diam.....	0,065	?	?	?
Œufs.....	$24 \times 14 \text{ à } 27,3 \times 14 \text{ } \mu$	$29 \times 14 \text{ } \mu$	$27,3 \times 14-18 \text{ } \mu$	$24 \times 12 \text{ } \mu$

(1) Linstow n'indique pas de localité, mais il travaillait alors à Göttingen et il est vraisemblable que l'hôte provenait des environs de cette ville.

DESCRIPTION. — Corps déprimé, ayant sa plus grande largeur vers le milieu du deuxième quart de sa longueur, s'atténuant rapidement en avant,



Leyogonimus polygonum (O. von Linstow, 1887) ; adulte vu par la face ventrale.
Intestin de *Gallinula chloropus* (L.). Richelieu (Indre-et-Loire). 25-9-1950.

devenant linguiforme en arrière. Cuticule spinulée jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure ; les spinules sont très régulièrement disposées en quinconces, très serrées, très fines, étroites, longues d'environ 7 à 8 μ . Ventouse orale termino-ventrale, plutôt petite. Ventouse ventrale à peine

plus grande, ayant son centre à peu près à la limite des 2^e et 3^e cinquièmes de la longueur du corps (c'est-à-dire à peu près au niveau de la plus grande largeur du corps). Prépharynx nul. Pharynx globuleux, environ moitié moins long que la ventouse orale. Œsophage plutôt large, environ deux fois plus long que le pharynx. Branches intestinales divergentes, suivant les bords latéraux du corps à partir du début du 3^e cinquième de la longueur, paraissant se terminer vers le bord postérieur des testicules.

Deux gros testicules symétriques, non lobés, à contour subcirculaire, non contigus, laissant entre eux un petit espace et situés au début de la seconde moitié du corps. Poche du cirre allongée longitudinalement le long du bord gauche du corps, dans l'espace entre le testicule gauche et le bord gauche du corps ; elle atteint antérieurement à peu près la mi-longueur du corps et se termine postérieurement au pore génital, qui s'ouvre un peu dorsalement sur le bord du corps, vers la limite entre les 5^e et 6^e septièmes de la longueur, un peu en arrière du niveau du bord postérieur des testicules. Il y a un cirre et une vésicule séminale interne. Ovaire irrégulièrement lobé, médian, entre la bifurcation intestinale et le milieu de l'acetabulum. Receptaculum seminis globuleux, médian, un peu en arrière de l'acetabulum ; son centre est au niveau du bord antérieur des testicules. Vitellogènes formant deux masses lobées, symétriques, situées de part et d'autre de l'acetabulum. Vitelloducte transverse passant entre le bord postérieur de l'acetabulum et le receptaculum seminis. Canal de Laurer non observé. Utérus remplissant toute la partie postérieure du corps en arrière du vitelloducte transverse. Œufs extrêmement nombreux, avec le bord operculaire saillant. Vessie excrétrice probablement simple, non bifurquée, en ovale très allongé, s'étendant antérieurement à peu près jusqu'au début du 4^e cinquième de la longueur du corps ; le pore excréteur est terminal.

DISCUSSION. — Entre la description donnée ci-dessus et celles par Linstow, Braun et Skrjabin, il y a évidemment des différences (par exemple, Linstow dit que la cuticule n'est pas spinulée), mais quatre caractères autorisent à considérer que mon spécimen, trouvé chez l'hôte-type, appartient bien à la même espèce : forme générale du corps, emplacement des vitellogènes, emplacement des sinuosités utérines, emplacement de la poche du cirre. Aucun autre distome d'oiseau ne m'est connu qui ait le pore génital submarginal, à gauche, dans le début du tiers postérieur du corps. De quel genre peut-on rapprocher *Leyogonimus polygon* (Linst.) ? Il est difficile d'établir un rapprochement. La topographie des organes rappelle un peu *Laterotrema* Semenov 1927, mais, dans ce genre, le pore génital est beaucoup plus antérieur. J'estime donc justifié, pour *polygon*, le genre monotypique proposé par T. G. Gyzinskaya, et je l'accepte avec la diagnose provisoire ci-après :

« Corps déprimé, plus long que large. Cuticule entièrement garnie de spinules serrées, longues et fines. Ventouses subégales. Prépharynx absent. Œsophage plus long que le pharynx. Cæca intestinaux paraissant peu

dépasser les testicules. Acetabulum un peu en avant ou en arrière de la mi-longueur du corps, à peu près au niveau de la plus grande largeur du corps. Testicules symétriques, non lobés, un peu postérieurs à l'acetabulum ou au même niveau. Ovaire médian, lobé, presque entièrement ou entièrement préacetabulaire et peu en arrière de la bifurcation intestinale. Vitellogènes en deux masses lobées, symétriques, au niveau de l'acetabulum ou un peu en avant. Vitelloducte transverse au niveau du bord postérieur de l'acetabulum. Receptaculum seminis médian, en partie en avant de l'espace intertesticulaire. Utérus décrivant de nombreuses sinuosités remplissant tout le corps en arrière des vitellogènes. Œufs très nombreux. Poche du cirre longitudinalement allongée contre le bord gauche du corps, entre celui-ci et le testicule gauche. Pore génital submarginal, en arrière du niveau du bord postérieur du testicule gauche, au début du tiers postérieur du corps. Vessie excrétrice s'étendant antérieurement jusqu'aux testicules. »

Peut-être faudra-t-il proposer une sous-famille des *Leyogoniminæ* pour ce genre aberrant ; mais, pour en préciser les affinités, il faut attendre de connaître si la vessie excrétrice est bien simplement sacciforme et ne se bifurque pas antérieurement, ce que je n'ai pas pu observer clairement. En l'absence de cette donnée anatomique, on ne peut savoir si l'attribution, par Skrjabin, aux *Lecithodendriidæ* « Tribu *Brandesiae* Skarbilovich, 1943 » serait acceptable, ou non.

Robert-Ph. DOLLFUS.

BIBLIOGRAPHIE

BRAUN (Maximilian). — Fascioliden der Vögel. *Zoolog. Jahrb. System.*, XVI, Heft 1, 6-5-1902, p. 1-162, pl. I-VIII, fig. 1-99.

LINSTOW (Otto von). — Helminthologische Untersuchungen. *Zoolog. Jahrb. System.*, III, Heft 1, 15-11-1887, p. 97-114, pl. II, fig. 1-17.

SKRJABIN (Konstantin, Ivanovitch). — *Trématodes des animaux et de l'homme. Les bases de la Trématodologie*, T. II, Éditions de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S., Moscou-Léningrade, 1948. 600 pages, 295 figures.

ESPÈCES NOUVELLES

Acariens

Ixodes pacificus R. A. Cooley et G. M. Kohls. *Ixodidé*. Colombie Britannique et Californie. *Pan-Pacific Ent.*, XIX, 1943, 4, 139-147.

Ixodes coneptati R. A. Cooley et G. M. Kohls. *Ixodidé*. Conepatus. Texas. *Pan-Pacific Ent.*, XIX, 1943, 4, 139-147.

Ornithodoros dugesi L. Mazzotti. *Ixodidé*. Mexique. *Rev. Inst. Salub. Enferm. trop.*, IV, 1943, 4, 371-374.

Ornithodoros nereensis E. N. Pavlovsky. Karakala, Turkmenistan. *C.R. Acad. Sci. U.R.S.S.*, XXXI, 1941, 4, 408.

Amblyomma avecolens R. A. Cooley et G. M. Kohls. *Ixodidé*. Vireo griseus (Oiseau). Sorita, Kennedy, Texas. *J. Parasit.*, N.-Y., XXX, 1944, 77.

Ornithodoros aquilae R. A. Cooley. *Ixodidé*. Oiseaux. Wyoming et Colorado. *J. Parasit.*, XXX, 1944, 5, 287.

Ixodes ozarkus R. A. Cooley. *Ixodidé*. Daims et chiens. Arkansas. *J. Parasit.*, XXX, 1944, 5, 287.

Microtrombidium maculatum C. D. Michender. *Thrombididé*. Moustiques. Panama. *Ann. ent. Soc. Amer.*, XXXIX, 1946, 3, 349.

Microtrombidium pistiae C. D. Michender. *Thrombididé*. Chironomes (morts). Panama. *Ann. ent. Soc. Amer.*, XXXIX, 1946, 3, 349.

Ixodes montoyanus R. A. Cooley. *Ixodidé*. Nasuella olivacea. Monserate, Bogota, Colombie. *Bol. Ofic. Sanit. Panamer. Wash.*, XXIII, 1944, 12, 1090.

Ixodes neotomae R. A. Cooley. *Ixodidé*. Neotoma microtis. Los Angeles, Californie. *Pan-Pacific Ent.*, XX, 1944, 1, 7.

Ixodes ozarkus R. A. Cooley. *Ixodidé*. Chien. Huntsville, Arkansas. *J. Parasit.*, XXX, 1944, 5, 287.

Ixodes longiscutatum J. J. Boero. *Ixodidé*. *Rev. Assoc. Med. Argent.*, LVIII, 1944, 534, 353.

Ixodes peromysci G. F. Augustson. *Ixodidé*. Peromyscus maniculatus elusus. Californie. *Bull. S. Calif. Acad. Sci.*, XXXVIII, 1940, 3, 191.

Ornithodoros dyeri R. A. Cooley et G. M. Kohls. *Ixodidé*. *Pul. Health Rep. Washington*, LV, 1940, 21, 925.

Otobius lagophilus R. A. Cooley et G. M. Kohls. *Ixodidé*. Lapin. *Publ. Health Rep. Washington*, LV, 1940, 21, 928.

Le Gérant : Georges MASSON.

MASSON ET CIE Editeurs, Paris

Dépôt légal : 1951 (1^{er} trimestre). — Numéro d'ordre : 1.298

à Cahors (France). — 81.187. — C.O.L. 31.2330

Imprimé par Imp A. COUESLANT (personnel intéressé)